



SKRIPSI

**FERMENTASI HIDROLISAT ECENG GONDOK
BASAH MENJADI ETANOL OLEH *Zymomonas mobilis*
DAN *Saccharomyces cerevisiae***

**RADLIN MAULANAL HAQ
NRP. 0121144000025**

**Dosen Pembimbing I
Yatim Lailun Ni'mah, M.Si., Ph.D.**

**Dosen Pembimbing II
Herdayanto Sulisty Putro, M.Si.**

**DEPARTEMEN KIMIA
FAKULTAS SAINS
INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER
SURABAYA
2018**



SCRIPT

FERMENTATION OF WET WATER HYACINTH HYDROLYZATE TO ETHANOL WITH *Zymomonas mobilis* AND *Saccharomyces cerevisiae*

**RADLIN MAULANAL HAQ
NRP.01211440000025**

**Supervisor I
Yatim Lailun Ni'mah, M.Si., Ph.D.**

**Supervisor II
Herdayanto Sulistyo Putro, S.Si., M.Si.**

**DEPARTMENT OF CHEMISTRY
FACULTY OF SCIENCES
INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER
SURABAYA
2018**

**FERMENTASI HIDROLISAT ECENG GONDOK
BASAH MENJADI ETANOL OLEH *Zymomonas*
mobillis DAN *Saccharomyces cerevisiae***

SKRIPSI

Disusun Untuk Memenuhi Salah Satu Syarat Memperoleh
Gelar Sarjana Program Studi S-1
Departemen Kimia
Fakultas Sains
Institut Teknologi Sepuluh Nopember
Surabaya

Radlin Maulanal Haq
NRP. 01211440000025

**DEPARTEMEN KIMIA
FAKULTAS SAINS
INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER
SURABAYA
2018**

LEMBAR PENGESAHAN

FERMENTASI HIDROLISAT ECENG GONDOK BASAH MENJADI ETANOL OLEH *Zymomonas* *mobillis* DAN *Saccharomyces cerevisiae*

SKRIPSI

Disusun oleh :

Radlin Maulanal Haq
NRP. 01211440000025

Surabaya, 17 Oktober 2018
Menyetujui,

Dosen Pembimbing I



Yatim Lailun Ni'mah, Ph.D.
NIP 19840524 200812 2 006

Dosen Pembimbing II



Herdayanto S. Putro, M.Si.
NIP 19810125 200812 1 001



Prof. Dr. Didik Prasetyoko, S.Si., M.Sc.
NIP 19710616 199703 1 002

Karya ini kupersembahkan untuk
Ayah, Ibu dan Kakak tercinta, para sahabatku
Teman-temanku angkatan 2014 (GALAXY)
Kamp ceria, Anggota warkop GOEBOEG99
Keluarga besar Bonek *Heroes Campus*
Serta, rekan-rekan HUBLU dan HIMKA ITS

**FERMENTASI HIDROLISAT ECENG GONDOK
BASAH MENJADI ETANOL OLEH *Zymomonas mobilis*
DAN *Saccharomyces cerevisiae***

Nama : Radlin Maulanal Haq
NRP : 01211440000025
Jurusan : Kimia FS – ITS
Dosen Pembimbing : Yatim Lailun Ni'mah, Ph.D.
: Herdayanto Sulistyo Putro, M.Si.

ABSTRAK

Pada penelitian ini telah dilakukan produksi etanol dengan proses hidrolisis eceng gondok basah dengan menggunakan H_2SO_4 5% dan fermentasi hidrolisat menggunakan kultur campuran bakteri *Zymomonas mobilis* dan ragi *Saccharomyces cerevisiae*. Proses fermentasi dilakukan dengan variasi waktu 12, 24, 36, 48, dan 60 jam dengan suhu fermentasi 30 °C. Hasil fermentasi yang diperoleh di uji menggunakan gas kromatografi dan didapatkan kadar etanol berurutan sebesar 44,75%; 50,37%; 79,22%; 87,05%, 91,65% dan diperoleh *yield* etanol sebesar 26,74%; 27,67%; 31,53%; 32,62%; 38,89% %. Kadar etanol terbesar didapatkan pada variasi waktu 60 jam sebesar 91,65% dengan *yield* 38,89%.

Kata kunci : *Zymomonas mobilis*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Yield etanol*, *Fermentasi etanol*.

FERMENTATION OF WET WATER HYACINTH HYDROLYZATE TO ETHANOL WITH *Zymomonas mobilis* AND *Saccharomyces cerevisiae*

Name : Radlin Maulanal Haq
NRP : 01211440000025
Department : Kimia FS – ITS
Supervisor : Yatim Lailun Ni'mah, Ph.D.
: Herdayanto Sulistyo Putro, M.Si.

ABSTRACT

In this study ethanol production has been carried out with the hydrolysis process of wet water hyacinth using H₂SO₄ 5% and hydrolysate fermentation using a mixture of *Zymomonas mobilis* bacteria and *Saccharomyces cerevisiae* yeast. Where from the fermentation process carried out with a variation of time 12, 24, 36, 48, and 60 hours with a fermentation temperature of 30 °C and obtained fermentation results were tested using gas chromatography and obtained ethanol content of 44,75%; 50,37%; 79,22%; 87,05%; 91,65% sequentially and obtained ethanol yield of 26,74%; 27,67%; 31,53%; 32,62%; 38,89%. The highest ethanol content was obtained at 60 hours time variation of 91,65% with yield 38,89%.

Keywords : *Zymomonas mobilis*, *Saccharomyces cerevisiae*,
Ethanol yield, *Ethanol fermentation*.

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Tuhan Yang Maha Esa yang selalu melimpahkan Rahmat dan karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan dengan baik naskah tugas akhir yang berjudul **“FERMENTASI HIDROLISAT ECENG GONDOK BASAH MENJADI ETANOL OLEH *Zymomonas Mobillis* DAN *Saccharomyces Cerevisae*”**.

Tulisan ini tidak akan terwujud tanpa bantuan, dukungan, doa, serta dorongan semangat dari semua pihak. Sehingga penulis sangat berterima kasih kepada:

1. Yatim Lailun Ni'mah, M.Si., Ph.D dan Herdayanto Sulistyo Putro, S.Si., M.Si selaku Dosen Pembimbing yang telah memberikan pengarahan dan bimbingan selama proses penyusunan naskah Skripsi ini.
2. Dra. Ita Ulfin, MSi. selaku kepala laboratorium instrumentasi sains analitik atas fasilitas yang diberikan.
3. Drs. Refdinal Nawfa, M.S selaku kepala laboratorium Kimia Mikroorganisme atas fasilitas yang diberikan.
4. Dra. Ratna Edianti, MS., Ph.D selaku Kepala Prodi Program Studi Kimia S1.
5. Ir. Endang Purwanti S., MT. selaku dosen wali.
6. Prof. Dr. Didik Prasetyoko, M.Sc. selaku Kepala Departemen Kimia atas fasilitas yang diberikan.
7. Kedua orang tua yang selalu memberikan dukungan, semangat, serta doa yang tiada henti.
8. Keluarga besar Anwar Joddin, keluarga besar Museri Unus dalam memberikan semangat yang lebih kepada penulis
9. Teman-teman Kimia angkatan 2014 yang selalu membantu menyelesaikan kesulitan penulis dalam menyelesaikan naskah ini.
10. Syifa Safira Hamzah yang selalu memberikan dukungan semangat dan doa yang tiada henti.

11. Rekan-rekan kamp ceria, warung kopi GOEBOEG 99, dan keluarga besar *Green Nord Tribune* yang selalu memberi motivasi, dukungan serta pengertian terhadap penulis
12. Rekan-rekan seperjuangan di lab mikroorganisme dan lab instrumentasi sains analitik atas semua doa, dukungan, motivasi dan pengertiannya kepada penulis.
13. Teman-teman Himpunan Mahasiswa Kimia ITS dan Ikatan Himpunan Mahasiswa Kimia Indonesia atas semua doa dan pengertiannya.
14. Semua pihak yang telah membantu yang tidak mungkin saya sebutkan satu persatu.

Penulis menyadari bahwa penulisan naskah tugas akhir ini tidak lepas dari kekurangan, oleh karena itu penulis mengharapkan kritik dan saran untuk dapat meningkatkan kualitas dan perbaikan.

Surabaya, 17 Oktober 2018
Penulis

DAFTAR ISI

| | |
|--|------|
| ABSTRAK | vi |
| ABSTRACT | vii |
| KATA PENGANTAR..... | viii |
| DAFTAR ISI | x |
| DAFTAR GAMBAR..... | xiii |
| DAFTAR TABEL | xiv |
| DAFTAR LAMPIRAN | xv |
| BAB I PENDAHULUAN | 1 |
| 1.1. Latar Belakang | 1 |
| 1.2. Rumusan Masalah | 3 |
| 1.3. Tujuan Penelitian | 3 |
| 1.4. Batasan Masalah | 3 |
| 1.5. Manfaat Penelitian | 3 |
| BAB II TINJAUAN PUSTAKA | 5 |
| 2.1 Eceng Gondok (<i>Eichhornia crassipes</i>) | 5 |
| 2.1.1 Kandungan Eceng Gondok..... | 7 |
| 2.2 Fermentasi | 11 |
| 2.3 Bioetanol | 13 |
| 2.4 Bakteri <i>Z. Mobillis</i> | 16 |
| 2.5 Bakteri <i>S. Cerevisiae</i> | 18 |
| 2.6 Hidrolisis..... | 20 |
| 2.6.1 Hidrolisis Asam..... | 20 |
| 2.6.2 Hidrolisis Selulosa..... | 21 |
| 2.7 Destilasi..... | 22 |
| 2.8 Karakterisasi | 25 |

| | | |
|----------------------------------|--|----|
| 2.8.1 | Kromatografi Gas | 25 |
| 2.8.2 | Spektrofotometer UV - Vis | 26 |
| 2.8.3 | Turbidimetri | 28 |
| BAB III METODE PENELITIAN | | 31 |
| 3.1 | Alat dan Bahan..... | 31 |
| 3.1.1 | Alat..... | 31 |
| 3.1.2 | Bahan..... | 31 |
| 3.2 | Prosedur Penelitian | 31 |
| 3.2.1 | Penentuan Kurva Standar Gula Reduksi | 31 |
| 3.2.2 | Regenerasi Bakteri | 32 |
| 3.2.3 | Pembuatan Kurva Pertumbuhan Bakteri <i>Z. Mobillis</i> 32 | |
| 3.2.4 | Preparasi Sampel Biomassa Eceng Gondok..... | 33 |
| 3.2.5 | Hidrolisis Biomassa Eceng Gondok dengan Asam Encer..... | 33 |
| 3.2.6 | Pembuatan Media Fermentasi | 33 |
| 3.2.7 | Penentuan Pola Fermentasi | 34 |
| 3.3 | Metode Analisa | 35 |
| 3.3.1 | Analisa Gula Reduksi..... | 35 |
| 3.3.2 | Analisa Kadar Etanol..... | 35 |
| BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN..... | | 37 |
| 4.1. | Regenerasi Bakteri <i>Z. Mobillis</i> | 37 |
| 4.2 | Kurva Pertumbuhan Bakteri <i>Z. Mobillis</i> | 38 |
| 4.3 | Kurva Standar Glukosa | 40 |
| 4.4 | Preparasi Eceng Gondok..... | 41 |
| 4.5. | Persiapan Media Fermentasi dan Kultur Cair | 43 |
| 4.6. | Fermentasi Eceng Gondok dengan <i>Z. Mobillis</i> dan <i>S.</i> <i>Cerevisiae</i> | 44 |

| | | |
|----------------------|---|----|
| 4.6.1 | Produksi Biomassa <i>Z. Mobillis</i> | 45 |
| 4.6.2 | Produksi Biomassa <i>S. Cerevisiae</i> | 46 |
| 4.6.3 | Fermentasi Eceng Gondok dengan <i>Z. Mobillis</i> dan <i>S. Cerevisiae</i> | 46 |
| 4.7 | Hasil Karakterisasi..... | 48 |
| 4.7.1 | Gas Kromatografi | 48 |
| BAB V PENUTUP | | 53 |
| 5.1 | KESIMPULAN..... | 53 |
| 5.2 | SARAN | 53 |
| DAFTAR PUSTAKA..... | | 55 |
| LAMPIRAN | | 63 |
| BIODATA PENULIS..... | | 77 |

DAFTAR GAMBAR

| | |
|---|----|
| Gambar 2. 1 Eceng Gondok (dokumen penulis) | 7 |
| Gambar 2. 2 Struktur Kimia Selulosa (Lehninger, 1993)..... | 8 |
| Gambar 2. 3 Struktur Kimia Hemiselulosa (Simanjuntak, 2007).. | 9 |
| Gambar 2. 4 Struktur Kimia Lignin (Higuchi dan Takayoshi, 2004) | 10 |
| Gambar 2. 5 Rangkaian alat destilasi (Armid, 2009) | 22 |
| Gambar 2. 6 Diagram Instrumen GC (Mc Nair dan Miler, 2009 | 26 |
| Gambar 2. 7 Skema alat spektrofotometer UV-Vis (Mulja danSuharman, 1995). | 28 |
| Gambar 4. 1 Regenerasi bakteri Zymomonas Mobillis pada media cawan petri. | 37 |
| Gambar 4. 2 Kurva Pertumbuhan Zymomonas Mobillis..... | 39 |
| Gambar 4. 3 Kurva Standar Glukosa..... | 41 |

DAFTAR TABEL

| | |
|---|----|
| Tabel 2. 1 Klasifikasi Tanaman Enceng Gondok | 6 |
| Tabel 2. 2 Kandungan Kimia dan Nutrisi pada enceng gondok | 8 |
| Tabel 2. 3 Sifat kimia bioetanol | 16 |
| Tabel 2. 4 Klasifikasi Z. Mobillis..... | 17 |
| Tabel 2. 5 Klasifikasi S. Cerevisiae..... | 20 |
| Tabel 4. 1 Tabel konsumsi Glukosa dan Hasil Teoritis | 48 |
| Tabel 4. 2 Data karakterisasi kromatografi gas sampel..... | 49 |
| Tabel 4. 3 Kadar Etanol Sampel Hasil Fermentasi..... | 50 |
| Tabel 4. 4 Hasil Yield Etanol Sampel | 51 |

DAFTAR LAMPIRAN

| | |
|---|----|
| Lampiran 1 Skema Kerja..... | 63 |
| Lampiran 2 Kurva Pertumbuhan | 67 |
| Lampiran 3 Kurva Standar Glukosa | 68 |
| Lampiran 4 Data Kromatogram Etanol Hasil GC | 69 |
| Lampiran 5 Perhitungan | 75 |

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Pada era globalisasi ini, peningkatan kualitas terjadi hampir di setiap bidang. Teknologi merupakan salah satu bidang yang terkena imbas paling besar. Seiring dengan perkembangan jumlah penduduk dunia kebutuhan akan energi semakin hari semakin meningkat, sedangkan cadangan energi yang berasal dari minyak bumi juga semakin menipis. Pada tahun 2005, minyak sebesar 39,2% telah banyak memegang kendali dalam kebutuhan energi dunia. Angka tersebut jauh diatas gas (23%), bahan padat (27,6%) bahkan energi terbarukan yang hanya 10,2 % (Hambali E., 2007).

Sumber daya energi yang beragam dalam negeri dan cadangan minyak diperkirakan hanya mampu mensuplai 18 tahun lagi, namun kenyataannya, pangsa konsumsi bahan bakar minyak mencapai proporsi tertinggi sekitar 63%. Tingkat konsumsi yang tidak sebanding dengan tingkat produksi menyebabkan kelangkaan terhadap bahan bakar tersebut. Sumber bahan bakar merupakan produk yang terbarukan sehingga tingkat *recovery* nya membutuhkan waktu yang sangat lama (Mukhtasor, 2009). Selain itu pembakaran bahan bakar fosil telah memberikan dampak negatif terhadap lingkungan. Kualitas udara yang semakin menurun ditambah adanya efek gas rumah kaca, indikasi ini sebagai penyebab perubahan iklim di muka bumi (Utami, 2007).

Salah satu energi alternatif yang mudah dibuat dan mampu mengganti energi tak terbarukan adalah bioetanol. Bioetanol adalah etanol yang berasal dari bahan utamanya berupa tumbuh-tumbuhan dan umumnya menggunakan proses fermentasi. Etanol atau etil alkohol (C_2H_5OH) berupa cairan bening tidak berwarna yang terurai secara biologis, toksisitas rendah dan tidak menimbulkan polusi udara yang besar bila bocor. Etanol yang terbakar menghasilkan karbon dioksida CO_2 dan air penggunaan

bioetanol sebagai bahan bakar minyak mempunyai banyak kelebihan dibandingkan dengan energi alternatif lain Etanol merupakan bahan bakar beroktan tinggi dan dapat menggantikan timbal sebagai peningkat nilai oktan dalam bensin, timbal tidak digunakan karena sangat berbahaya terhadap lingkungan sekitar karena hasil bakar dari timbal nantinya akan bercampur dengan udara sekitar. Selain itu etanol memiliki kandungan oksigen yang tinggi sehingga proses pembakaran yang terjadi lebih sempurna yang menyebabkan emisi akibat karbon monoksida pun berkurang (Walisiewicz, 2003).

Mikroorganisme yang dapat digunakan untuk produksi bioetanol diantaranya adalah *Z. Mobillis*. Bakteri ini bersifat anaerob fakultatif dan merupakan organisme fermentatif yang memanfaatkan sukrosa, glukosa, dan fruktosa dengan mengikuti jalur *Entner Doudoroff pathway* untuk menghasilkan etanol. *Z. Mobillis* memiliki kelebihan dibanding *S. Cerevisiae* diantaranya, konversi yang lebih cepat, toleran terhadap suhu dan pH rendah serta tahan terhadap etanol konsentrasi tinggi. Akan tetapi *S. Cerevisiae* memiliki aktivitas invertase yang tinggi sehingga sukrosa dengan cepat diubah menjadi glukosa dan fruktosa untuk keperluan metabolismenya. Dengan adanya enzim invertase, penggunaan sukrosa akan lebih efektif dan diharapkan mampu menurunkan produk samping yang terbentuk sehingga dapat meningkatkan kadar etanolnya (Tano, dkk., 2003).

Pada penelitian ini tanaman eceng gondok akan digunakan sebagai bahan baku pembuatan bioetanol karena selama ini eceng gondok hanya menjadi limbah di lingkungan sekitar dan kurang begitu dimanfaatkan. Bahan baku diambil di sekitar kampus ITS Sukolilo Surabaya untuk mengurangi dampak lingkungan yang muncul akibat adanya eceng gondok. Sehingga diharapkan setelah dikonversi menjadi bioetanol memiliki manfaat dan nilai ekonomi yang lebih tinggi dan lingkungan sekitar menjadi lebih bersih dari

tanaman eceng gondok. Salah satu metode pembuatan etanol yang paling terkenal adalah fermentasi. Untuk proses fermentasi ini akan menggunakan bakteri *Z. Mobillis* dan *S. Cerivisiae*. Bakteri *Z. Mobillis* digunakan karena mikroba tersebut mampu menghasilkan bioetanol lebih tinggi (5 - 10%) dari mikroba perfermentasi lain dan *S. Cerivisiae* merupakan khamir yang dapat mengubah sukrosa menjadi fruktosa dan glukosa (Riyanti, 2009).

1.2. Rumusan Masalah

Bagaimana pengaruh penggunaan bakteri *Z. Mobillis* dan *S. Cerevisiae* secara bersamaan terhadap kadar etanol yang dihasilkan. Bagaimana pengaruh variasi waktu terhadap proses fermentasi.

1.3. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui kemampuan bakteri *Z. Mobillis* dan *S. Cerevisiae* pada pembuatan bioetanol secara bersamaan dan mengurangi limbah eceng gondok yang ada di lingkungan masyarakat sekitar kampus ITS.

1.4. Batasan Masalah

Batas masalah pada penelitian ini dibatasi pada eceng gondok yang digunakan berasal dari sungai sekitar kampus ITS Sukolilo Surabaya. Bakteri yang digunakan yaitu *Z. Mobillis* yang merupakan stock bakteri dari Laboratorium Kimia Mikroorganisme Departemen Kimia Fakultas Ilmu Alam Institut Teknologi Sepuluh Nopember Surabaya, dan bakteri *S. Cerevisae* berasal dari ragi roti komersial (fermipan). Penelitian ini menggunakan variasi lama waktu fermentasi yaitu 12 jam, 24 jam, 36 jam, 48 jam, dan 60 jam yang diberikan pada setiap sampel.

1.5. Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini yaitu untuk memberikan informasi terkait penggunaan bakteri *Z. Mobillis* dan *S. Cerevisiae* dalam fermentasi bioetanol.

“Halaman ini sengaja dikosongkan”

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Eceng Gondok (*Eichhornia crassipes*)

Tanaman eceng gondok (*Eichhornia crassipes*) berasal dari Amerika Selatan. Tanaman ini merupakan sejenis tanaman bakung yang hidup terapung di atas permukaan air, banyak tumbuh liar di perairan seperti waduk, danau, rawa dan sungai. Eceng gondok termasuk dalam divisi *Embryophytasi phanogama*, sub divisi *Angiospermae*, kelas *Monocotyledonene*, keluarga *Pontedericeae*, dan marga *Eichhornia* (Villamagna, 2009). Tanaman ini memiliki ciri-ciri antara lain tinggi tanaman ini antara 0,4 - 0,8 m, batang dengan buku pendek, garis tengah antara 1 - 2,5 cm dengan panjang hingga 30 cm. Daun eceng gondok berbentuk agak bulat, berwarna hijau terang dan berdiameter 15 cm, kelopak bunga berwarna ungu muda atau agak kebiruan. Eceng gondok berkembang biak dengan cara vegetatif (Fuskhah, 2000).

Tangkai daun enceng gondok berisi serat yang kuat dan lemas serta mengandung banyak air. Akar dari eceng gondok merupakan akar serabut, secara fisiologis eceng gondok berperan secara tidak langsung dalam mengatasi bahan pencemar perairan karena dapat bertahan hidup deengan cara membentuk rumpun. Akar tumbuh subur dan lebat serta berwarna hitam dengan permukaan ungu. Oksigen hasil fotosintesis di daun dan tangkai daun ditransfer ke akar yang permukaannya luas serta air di sekitarnya. Tumbuhan eceng gondok terdiri atas helai daun, pengapung, leher daun, ligula, akar, akar rambut, ujung akar, dan stolon yang dijadikan sebagai tempat perkembangbiakan vegetatif (Aniek, 2003).

Eceng gondok (*Eichornia crassipes*) berkembang biak dengan sangat cepat, baik secara vegetatif maupun generatif. Pada umumnya eceng gondok tumbuh dengan cara vegetatif yaitu, dengan menggunakan stolon. Eceng gondok (*Eichornia crassipes*) menghasilkan bahan organik yang mempercepat proses

pendangkalan, juga mengurangi produksi ikan karena kerapatan tumbuhan menghalangi masuknya sinar matahari ke dalam air, dan menghambat proses aerasi. Kondisi optimum bagi perkembangannya memerlukan kisaran waktu antara 11 – 18 hari. Eceng gondok secara botanis mempunyai klasifikasi seperti yang ditunjukkan pada Tabel 2.1.

Eceng gondok (*Eichornia crassipes*) merupakan tanaman yang hidup mengapung di air dan kadang – kadang berakar dalam tanah, tingginya sekitar 0,4 – 0,8meter, tidak mempunyai batang, daunnya tunggal, dan berbentuk oval, ujung dan pangkalnya meruncing, pangkal tangkai daun menggelembung, permukaan daunnya licin dan berwarna hijau, bunganya termasuk bunga majemuk berbentuk bulir, kelopaknya berbentuk tabung, bijinya berbentuk bulat dan berwarna hitam, buahnya kotak beruang tiga dan berwarna hijau, akarnya merupakan akar serabut. Gambar dan bentuk eceng gondok dapat dilihat pada Gambar 2.1.

Tabel 2. 1 Klasifikasi Tanaman Eceng Gondok

| | |
|--------------|----------------------------------|
| Kerajaan | <i>Plantae</i> |
| Sub kerajaan | <i>Tracheobionta</i> |
| Divisi | <i>Magnoliophyta</i> |
| Sub divisi | <i>Spermatophyta</i> |
| Kelas | <i>Liliopsida</i> |
| Ordo | <i>Alismatales</i> |
| Keluarga | <i>Butomaceae</i> |
| Gen | <i>Eichornia</i> |
| Spesies | <i>Eichornia crassipes solms</i> |

(Gani, dkk., 2002)



Gambar 2. 1 Eceng Gondok (dokumen penulis)

2.1.1 Kandungan Eceng Gondok

Enceng gondok memiliki kandungan selulosa yang dihasilkan sebaik kapas dengan karakteristik serat sebagai berikut: panjang 1,53 mm, lebar 0,023 mm, tebal dinding sel 3,5 μm massa jenis 0,25 g/cm^3 , sifat putih (whiteness) 22,2 %, kehalusan (fineness) 35 (μ), kekuatan tarik 18-33 (Mpa).

Komposisi kimia eceng gondok tergantung pada kandungan unsur hara tempatnya tumbuh, dan sifat daya serap tanaman tersebut. Eceng gondok mempunyai sifat – sifat yang baik antara lain dapat menyerap logam – logam berat, senyawa sulfida, selain itu mengandung protein lebih dari 11,5 %. Kandungan kimia dan nutrisi (100 gram enceng gondok) selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 2.2.

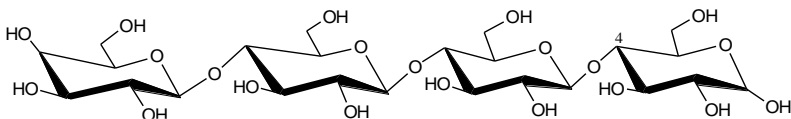
Selulosa adalah polimer glukosa yang berbentuk rantai linier dengan rumus molekul $(\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5)_n$ dan dihubungkan oleh ikatan β -1,4 glikosidik. Strukturnya yang linier menyebabkan selulosa bersifat kristalin dan tidak mudah larut. Selulosa tidak mudah terdegradasi secara kimia maupun mekanis. Pada tumbuhan, selulosa berasosiasi dengan polisakarida lain seperti hemiselulosa dan lignin membentuk kerangka utama dinding sel tumbuhan (Holtzapple, 2003).

Unit penyusun selulosa adalah selobiosa karena unit pengulangan dalam molekul selulosa adalah dua unit gula (D-glukosa). Selulosa merupakan polisakarida yang berfungsi untuk memberikan perlindungan, bentuk dan penyangga terhadap sel serta jaringan (Lehninger, 1993). Di dalam tumbuhan molekul selulosa tersusun dalam bentuk fibril. Fibril-fibril ini membentuk struktur kristal yang dibungkus oleh lignin. Komponen-komponen selulosa dapat diuraikan oleh aktifitas mikroorganisme. Beberapa mikroorganisme mampu menghidrolisis selulosa seperti bakteri dan fungi (Sukumaran, dkk., 2005). Struktur kimia Selulosa dapat dilihat pada Gambar 2.2.

Tabel 2. 2 Kandungan Kimia dan Nutrisi pada enceng gondok

| Kandungan Nutrisi | Nilai |
|-------------------|---------|
| Energi | 18 Kkal |
| Protein | 1gr |
| Lemak | 0,2 gr |
| Karbohidrat | 3,8 gr |
| Kalsium | 80 mg |
| Fosfor | 45 mg |
| Zat besi | 4 mg |
| Vitamin A | 1000 IU |
| Vitamin B1 | 0,08 mg |
| Vitamin C | 50 mg |
| Selulosa | 60 % |
| Hemiselulosa | 8 % |
| Lignin | 17 % |

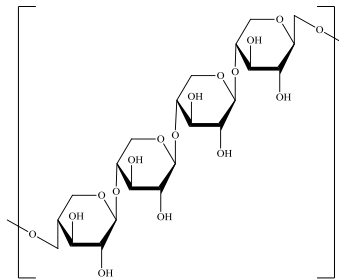
(Ahmed dkk., 2012)



Gambar 2. 2 Struktur Kimia Selulosa (Lehninger, 1993).

Hemiselulosa adalah polisakarida terbanyak setelah selulosa yang ditemukan pada tumbuhan dan tergolong senyawa organik. Hemiselulosa berikatan kuat secara kovalen dan non kovalen dengan lignin dan selulosa. Komponen terbesar hemiselulosa adalah xilan, yang merupakan polimer dari β -(1,4)-D-xylopiranosa (xilosa) dengan ikatan β -1,4-glikosida. Rantai xilan bercabang, kompleks dan strukturnya tidak berbentuk kristal, tidak bersifat serat pada saat pembentukan lembaran, sehingga mudah dimasuki pelarut (Simanjuntak, 2007).

Hemiselulosa lebih mudah larut dalam pelarut alkali dan lebih mudah dihidrolisis dengan asam menjadi komponen monomernya yang terdiri dari D-glukosa, D-manosa, D-galaktosa, D-silosa dan L-arabinosa (Simanjuntak, 2007). Hemiselulosa mempunyai rantai polimer yang pendek dan tak berbentuk, oleh karena itu sebagian besar dapat larut dalam air (Ibrahim, 1998). Struktur Kimia Hemiselulosa disajikan pada Gambar 2.3.



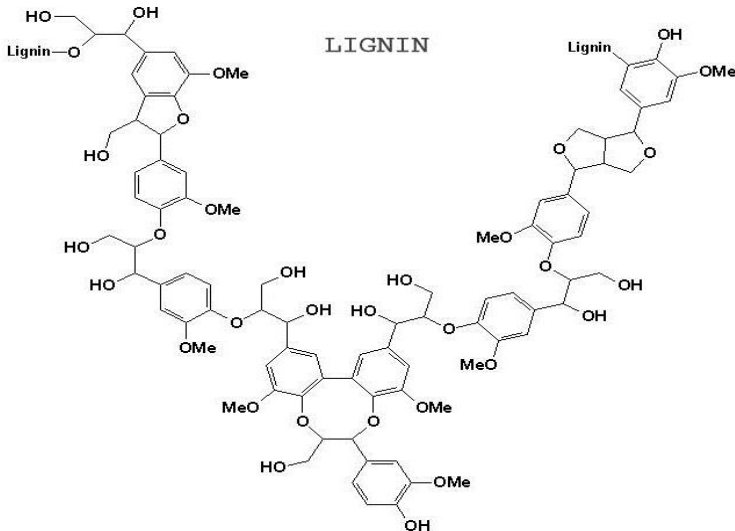
Gambar 2. 3 Struktur Kimia Hemiselulosa (Simanjuntak, 2007)

Lignin adalah senyawa turunan alkohol kompleks yang mampu menyebabkan dinding sel tanaman menjadi keras. Lignin juga dikenal sebagai bahan pengikat yang mampu mengikat ion logam pada tanaman, serta mencegah logam untuk bereaksi dengan komponen lain. Lignin tidak larut dalam air sehingga senyawa ini sulit terhidrolisis (Higuchi, dkk., 2004).

Lignin adalah polimer kompleks aromatik dari unit fenilpropana yang tersusun atas tiga komponen utama yaitu unit p-

hidroksifenil propanol (H) dari prekursor p-kumarilalkohol (para kuramilalkohol), unit guaiasil propanol (G) dari prekursor trans-koniferil alkohol dan unit siringil propanol (S) dari prekursor trans-sinapil alkohol (Fengel, dkk., 1995).

Lignin merupakan polimer yang sukar larut dalam asam dan basa kuat serta sulit terdegradasi secara kimiawi maupun secara enzimatis. Lignin pada kayu terletak pada lamela tengah antara selulosa, hemiselulosa dan pektin. Lignin berperan penting bagi tumbuhan sebagai pengangkut air, nutrisi dan metabolis lain dalam sel tumbuhan. Lignin sulit terdegradasi karena strukturnya yang kompleks berikatan dengan selulosa dan hemiselulosa dalam jaringan tanaman. Lebih dari 30% tanaman tersusun atas lignin yang mampu memberikan bentuk kokoh serta berikatan kuat dengan polisakarida untuk melindungi polisakarida dari degradasi mikroba serta membentuk struktur lignoselulosa (Higuchi, dkk., 2004). Struktur Kimia Lignin disajikan pada Gambar 2.4.



Gambar 2. 4 Struktur Kimia Lignin (Higuchi dkk., 2004)

2.2 Fermentasi

Fermentasi merupakan suatu proses perubahan kimia pada suatu substrat organik melalui aktivitas enzim yang dihasilkan oleh mikroorganisme (Suprihatin, 2010). Proses fermentasi dibutuhkan starter sebagai mikroba yang akan ditumbuhkan dalam substrat. Starter merupakan populasi mikroba dalam jumlah dan kondisi fisiologis yang siap diinokulasikan pada media fermentasi (Prabowo, 2011). Fermentasi dapat dilakukan dengan dua cara, yaitu spontan dan tidak spontan. Fermentasi spontan adalah yang tidak ditambahkan mikroorganisme dalam bentuk starter atau ragi dalam proses pembuatannya, sedangkan fermentasi tidak spontan adalah yang ditambahkan starter atau ragi dalam proses pembuatannya. Mikroorganisme tumbuh dan berkembang secara aktif merubah bahan yang difermentasi menjadi produk yang diinginkan pada proses fermentasi (Suprihatin, 2010).

Prinsip dasar fermentasi adalah mengaktifkan kegiatan mikroba tertentu dengan tujuan mengubah sifat bahan agar dihasilkan suatu yang bermanfaat. Perubahan ini terjadi karena dalam proses fermentasi jumlah mikroba diperbanyak metabolisemenya didalam bahan tersebut dalam batas tertentu (Assegaf, 2009).

Hasil fermentasi diperoleh sebagai akibat metabolisme mikroba-mikroba pada suatu bahan pangan dalam keadaan anaerob. Mikroba yang melakukan fermentasi membutuhkan energi yang umumnya diperoleh dari glukosa. Dalam keadaan aerob, mikroba mengubah glukosa menjadi air, CO₂ dan energi (ATP). Beberapa mikroba hanya dapat melangsungkan metabolisme dalam keadaan anaerob dan hasilnya adalah substrat yang setengah terurai. Hasil penguraianya adalah air, CO₂, energi dan sejumlah asam organik lainnya, seperti asam laktat, asam asetat, etanol serta bahan-bahan organik yang mudah menguap. Perkembangan mikroba-mikroba dalam keadaan anaerob biasanya dicirikan sebagai proses fermentasi (Muchtadi, dkk., 2010).

Yeast merupakan tumbuhan mikroskopik bersel satu dan merupakan golongan fungi, tidak bercabang dan tidak mempunyai klorofil serta memperbanyak diri dengan cara *budding* (pertunasan). *Yeast* memfermentasi gula untuk menghasilkan etanol dan CO₂ serta produk samping lainnya. *Yeast* atau ragi yang digunakan dalam pangan adalah *S. Cerevisiae* yang pada umumnya dinamakan ragi roti. Beberapa faktor yang mempegaruhi kadar bioetanol yang dihasilkan dengan proses fermentasi, antara lain:

A. Jenis Mikroorganisme

Mikroorganisme dibagi menjadi beberapa jenis yaitu khamir, kapang dan bakteri. Tidak semua mikroorganisme dapat digunakan secara langsung dalam proses fermentasi, diperlukan seleksi yang sesuai dengan proses fermentasi. Pemilihan mikroorganisme dapat dilakukan berdasarkan jenis substrat (bahan) yang digunakan sebagai medium, misalnya untuk menghasilkan etanol maka khamir yang digunakan *S. Cerevisiae*. Seleksi terhadap mikroorganisme bertujuan untuk mendapatkan mikroorganisme yang mampu tumbuh cepat dan mempunyai toleransi tinggi terhadap konsentrasi gula yang tinggi sehingga dapat menghasilkan kadar etanol yang diinginkan.

B. Waktu Fermentasi

Waktu fermentasi sangat mempengaruhi kadar bioetanol yang dihasilkan. Umumnya waktu fermentasi dilakukan antara 4 – 20 hari dan ditentukan berdasarkan jenis bahan dan jenis mikroorganisme.

C. Derajat Keasaman (pH)

Rata-rata nilai pH bahan baku yang digunakan untuk fermentasi tergantung dengan jenis mikroorganisme yang digunakan. Untuk *S. Cerevisiae* pH optimum untuk pertumbuhannya adalah 4 – 4,5.

D. Kadar Gula

Gula yang ditambahkan pada bahan fermentasi bertujuan untuk memperoleh kadar etanol yang lebih tinggi, tetapi apabila kadar gula terlalu tinggi maka dapat menghambat aktifitas khamir. Kadar gula yang optimum untuk pertumbuhan khamir adalah 10 – 18%.

E. Suhu

Masing-masing golongan memiliki suhu pertumbuhan optimum yang berbeda-beda, untuk *S. Cerevisiae* suhu optimumnya berkisar 19 – 32°C (Eka dkk., 2008).

2.3 Bioetanol

Bioetanol (C_2H_5OH) merupakan cairan yang tidak berwarna (jernih) seperti air, mudah larut dalam air dan eter, berbau khas dan bersifat volatile (mudah menguap). Pada proses fermentasi gula dari sumber karbohidrat yang menggunakan bantuan mikroorganisme. Dalam perkembangannya, produksi alkohol yang paling banyak digunakan adalah metode fermentasi dan distilasi. Bahan baku yang dapat digunakan pada pembuatan etanol adalah nira bergula (sukrosa): nira tebu, nira nipah, nira sorgum manis, nira kelapa, nira aren, nira siwalan, sari buah mete, bahan berpati: tepung-tepung sorgum biji, sagu, singkong, ubi jalar, ganyong, garut, umbi dahlia; bahan berselulosa (lignoselulosa): kayu, jerami, batang pisang, bagas dan lain-lain (Musnif, 2012).

Bioetanol merupakan bagian dari kelompok metil (CH_3-) yang terangkai pada kelompok metilen ($-CH_2-$) dan terangkai dengan kelompok hidroksil ($-OH$). Secara umum, akronim dari bioetanol adalah EtOH (Ethyl-(OH)).

Bioetanol memiliki sifat tidak berwarna namun memiliki aroma yang khas. Sifatnya yang tidak beracun sehingga banyak

dipakai sebagai pelarut dalam dunia farmasi dan industri makanan-minuman. Bioetanol merupakan salah satu jenis biofuel (bahan bakar cair dari pengolahan tumbuhan) di samping biodiesel. Bioetanol merupakan etanol yang dihasilkan dari fermentasi glukosa (gula) yang dilanjutkan dengan proses destilasi. Proses destilasi dapat menghasilkan etanol dengan kadar 95% volume, untuk digunakan sebagai bahan bakar (biofuel) perlu lebih dimurnikan lagi hingga mencapai 99% yang lazim disebut *Fuel Grade Ethanol* (FGE). Proses pemurnian dengan prinsip dehidrasi umumnya dilakukan untuk memisahkan air dari senyawa etanol (Musnif, 2012).

Etanol dikategorikan dalam dua kelompok utama, yaitu:

1. Etanol 95 – 96%, disebut dengan “etanol berhidrat”, yang dibagi dalam:
 - a. *Technical/raw spirit grade*, digunakan untuk bahan bakar spiritus, minuman, desinfektan, dan pelarut.
 - b. *Industrial grade*, digunakan untuk bahan baku industri dan pelarut.
 - c. *Potable grade*, untuk minuman berkualitas tinggi.
2. Etanol > 99,5%, digunakan untuk bahan bakar. Jika dimurnikan lebih lanjut dapat digunakan untuk keperluan farmasi dan pelarut di laboratorium analisis. Etanol ini disebut dengan *Fuel Grade Ethanol* (FGE) atau *anhydrous ethanol* (etanol anhidrat) atau etanol kering, yakni etanol yang bebas air atau hanya mengandung air minimal (Prihandana, 2007).

Bioetanol dapat dibuat dari tiga jenis bahan baku, yaitu:

1. Sakarin.

Sakarin adalah material yang di dalamnya terdapat karbohidrat dalam bentuk sederhana, enam dan dua belas molekul gula karbon seperti *glukosa*, *fruktosa*, dan *maltose* yang dapat langsung difermentasikan. Beberapa material yang mengandung

sakarin, seperti: tebu, bit gula (*sugar beets*), buah- buahan segar dan kering, tetes dan lain-lain.

2.Saripati.

Saripati merupakan bagian yang mengandung karbohidrat yang lebih kompleks seperti pati dan inulin yang dapat dipecah menjadi enam dan dua belas molekul gula karbon dengan proses hidrolisis dengan asam atau enzim di dalam proses yang disebut *malting*. Beberapa material yang mengandung saripati, seperti: nanas, jagung, biji sorghum, jawawut (*Barley*), gandum, kentang, ubi jalar, ubi kayu, dan lain-lain.

3.Selulosa,

Selulosa seperti kayu, limbah kayu, kertas, jerami, batang jagung, tongkol jagung, kapas dan lain-lain, yang mengandung material yang dapat dihidrolisis dengan asam, enzim atau dengan kata lain dirubah menjadi gula yang dapat difermentasikan. Penggunaan paling besar dari gula untuk fermentasi adalah molasesnya yang mengandung sekitar 35 - 40% berat sukrosa, 15 - 20% berat gula invers seperti glukosa dan fruktosa, dan 28 - 35% berat padatan bukan gula. Molases diencerkan untuk memperoleh 10 - 20% berat gula. Setelah pH dijadikan 4 - 5 dengan asam mineral kemudian diinokulasikan dengan *yeast* dan difermentasi pada suhu 20 - 320 °C selama kira - kira 1 - 3 hari. Fermentasi langsung nira gula tebu, nira gula bit, molases gula bit, buah segar, sorghum, whey, susu skim digunakan untuk mendapatkan etanol, tapi molasses adalah bahan terbaik untuk menghasilkan etanol (Harahap dkk., 2012). Sifat kimia dari bioetanol disajikan pada Tabel 2.3

Tabel 2. 3 Sifat kimia bioetanol

| Sifat | Kandungan |
|-----------------------|----------------------|
| Berat molekul | 46.07 g/mol |
| Berat jenis | 0.7905 g/mol (20 °C) |
| Viskositas | 0.0122 poise (20 °C) |
| Titik didih | 78.9 °C |
| Titik leleh | -122 °C |
| Panas laten penguapan | 204 kal/g |

(Alamsyah, 2007).

2.4 Bakteri *Z. Mobillis*

Marga *Zymomonas* termasuk dalam bakteri gram negatif yang bersifat anaerobik fakultatif. *Z. mobillis* mempunyai bentuk seperti tangkai dengan ukuran lebar 1,0 – 2,0 µm dan panjang 2,0 – 6,0 µm dan selalu berpasangan serta termasuk bakteri yang tidak *mobil*. Bakteri ini dapat tumbuh baik dengan sumber nitrogen berbentuk ammonium (Buchanan, dkk., 1975). Karena bersifat anaerobik fakultatif maka bakteri ini dapat tumbuh dalam lingkungan yang aerob maupun anaerob (Levett, 1990).

Bakteri ini banyak digunakan di perusahaan bioetanol karena menghasilkan kemampuan yang dapat melampaui ragi dalam beberapa aspek. *Z. Mobillis* memiliki beberapa kelebihan dibandingkan dengan *S. Cerevisiae* yaitu:

1. Dapat tumbuh secara anaerob fakultatif dan mempunyai toleransi suhu yang tinggi.
2. Mempunyai kemampuan untuk mencapai konversi yang lebih tinggi.
3. Tahan terhadap kadar etanol yang tinggi dan pH yang rendah.
4. Mampu menghasilkan yield etanol 92% dari nilai teoritisnya.

Klasifikasi *Z. Mobillis* diberikan pada Tabel 2.4.

Tabel 2. 4 Klasifikasi *Z. Mobillis*

| | |
|----------|----------------------------|
| Kerajaan | <i>Bacteri</i> |
| Divisi | <i>Proteobacteria</i> |
| Kelas | <i>Alphaproteobacteria</i> |
| Ordo | <i>Sphingomonadales</i> |
| Keluarga | <i>Sphingomonadaceae</i> |
| Gen | <i>Zymomonas</i> |
| Spesies | <i>Zymomonas mobilis</i> |

(Gunasekaran, dkk., 2002)

Bakteri ini awalnya terisolasi dari minuman beralkohol seperti tuak Afrika, Meksiko pulque, dan juga sebagai kontaminan dari sari buah apel dan bir di negara - negara Eropa. Suhu optimum proses fermentasi dengan menggunakan *Z. Mobillis* adalah pada kisaran pH 4 – 7. Karakteristik menarik *Z. Mobillis* adalah mengandung hopanoid, senyawa pentasiklik mirip dengan eukariotik sterol. Hal ini memungkinkan untuk memiliki toleransi yang luar biasa untuk kondisi lingkungan yang mengandung etanol sekitar 14 – 15 % (Gunasekaran, dkk., 2002).

Faktor-faktor yang mempengaruhi fermentasi etanol oleh *Z. Mobillis* meliputi: pH, temperatur, sumber karbon, faktor tumbuh, sumber nitrogen, oksigen, dan alkohol. Disamping itu, kondisi inokulum serta kualitas substrat juga mempengaruhi hasil yang diperoleh dan efisiensi fermentasi. Kondisi inokulum tergantung pada faktor-faktor lingkungannya, adanya mikrobia kontaminan akan sangat menghambat fermentasi (Swings, dkk., 1977).

Z. Mobillis mampu menghasilkan *yield* etanol sekurang-kurangnya 12% (w/v) dan diatas 97 % dari nilai teoritisnya. Ketika dibandingkan dengan *yeast*, *Z. mobillis* mampu menghasilkan 5 – 10 *yield* yang lebih tinggi dan menghasilkan produktivitas lima kali lebih besar. *Yield* tinggi yang dihasilkan oleh bakteri ini dihubungkan dengan reduksi biomassa selama fermentasi, dan

dibatasi oleh ketersediaan ATP. Bakteri ini secara alami ditemukan pada tanaman yang mengandung gula-gula yang dapat difermentasi seperti anggur (Swings, dkk., 1977).

Pada fermentasi sukrosa menggunakan *Z. Mobillis*, pertama kali sukrosa akan terhidrolisis oleh enzim sukrase. Enzim ini dihasilkan oleh bakteri *Z. Mobillis* yang memutus ikatan α (1–2) pada sukrosa sehingga menghasilkan dua macam monosakarida yaitu glukosa dan fruktosa. Fruktosa difosforilasi oleh enzim fruktokinase menjadi fruktosa-6 fosfat kemudian diisomerisasi oleh enzim fosfoheksosa isomerase menjadi glukosa- 6-fosfat yang kemudian diubah menjadi etanol, sedangkan glukosa akan diuraikan melalui jalur 2-keto-3-deoksi-6-fosfoglukonat dan memecah piruvat dengan enzim piruvat dekarboksilase menjadi asetaldehida dan CO₂. Asetaldehida yang terbentuk kemudian direduksi menjadi etanol (Swings, dkk., 1977).

Glukosa dan fruktosa juga diubah oleh enzim GFOR (*Glucose Fructose Oksidoreductase*) yang ada di dalam periplasma sel menjadi glukonolakton dan sorbitol. Glukonolakton kemudian diubah menjadi glukonat oleh enzim gluconolactonase. Glukonat dan sorbitol yang terbentuk di dalam periplasma sel kemudian dibawa oleh *gluconate carrier* dan *sorbitol carrier* melalui membran sitoplasma ke dalam sitoplasma bakteri *Z. Mobillis*. Glukonat akan diubah oleh enzim glukonatkinase menjadi 6 fosfoglukonolakton mengikuti jalur Entner Doudoroff dan pada akhirnya diubah menjadi etanol (Swings, dkk., 1977).

2.5 Bakteri *S. Cerevisiae*

S. Cerevisiae merupakan khamir sejati tergolong eukariot yang secara morfologi hanya membentuk blastospora berbentuk bulat lonjong, silindris, oval atau bulat telur yang dipengaruhi oleh strainnya. *S. Cerevisiae* dapat berkembang biak dengan membelah diri melalui "*budding cell*", reproduksinya dapat dipengaruhi oleh keadaan lingkungan serta jumlah nutrisi yang tersedia bagi

pertumbuhan sel. Penampilan makroskopik mempunyai koloni berbentuk bulat, warna kuning muda, permukaan berkilau, licin, tekstur lunak dan memiliki sel bulat dengan askospora 1-8 buah (Fardiaz, 1992).

S. Cerevisiae merupakan salah satu jenis khamir. Khamir adalah fungi uniseluler yang eukariotik. Sel khamir yang termasuk jenis *Saccharomyces* berbentuk bulat, oval atau memanjang dan dapat membentuk pseudomiselium. Sel *S. Cerevisiae* berukuran $(3 - 10) \times (4,5 - 21) \mu\text{m}$. Reproduksi *Saccharomyces* dilakukan dengan membentuk tunas dan spora seksual (Fardiaz, 1992).

S. Cerevisiae merupakan salah satu spesies ragi yang memiliki daya konversi gula menjadi bioetanol dengan baik. Mikroba ini biasanya dikenal dengan *baker's yeast* dan metabolismenya telah dipelajari dengan baik. Produk metabolik utama adalah bioetanol, CO₂, dan air sedangkan beberapa produk lain dihasilkan dalam jumlah sangat sedikit. Ragi ini bersifat fakultatif anaerobik. *S. Cerevisiae* memerlukan suhu 30 °C dan pH 4,0 - 4,6 agar dapat tumbuh dengan baik. Ragi tumbuh optimum pada suhu 25 - 30 °C dan 9 maksimum pada 35 - 47 °C. Nilai pH untuk pertumbuhan ragi yang baik antara 3 - 6. Perubahan pH dapat mempengaruhi pembentukan hasil samping fermentasi. Pada pH tinggi maka konsentrasi gliserin akan naik dan juga berkorelasi positif antara pH dan pembentukan asam piruvat. Pada pH tinggi maka *lag phase* akan berkurang dan aktivitas fermentasi akan naik (Winjaya, 2011). *S. Cerevisiae* sering digunakan untuk memproduksi etanol secara fermentasi karena dapat menghasilkan etanol dalam jumlah besar dan mempunyai nilai toleransi terhadap alkohol yang tinggi. Khamir ini memiliki daya, tingkat dan rendemen etanol yang tinggi tetapi tidak mampu memfermentasi xilosa yang merupakan jenis gula terbesar kedua di alam (Kotter dkk., 1993). Klasifikasi *S. Cerevisiae* dapat dilihat pada Tabel 2.5.

Tabel 2. 5 Klasifikasi *S. Cerevisiae*

| Kerajaan | Fungi |
|----------|---------------------------------|
| Filum | <i>Ascomycota</i> |
| Subfilum | <i>Saccharomycotina</i> |
| Kelas | <i>Saccharomycetes</i> |
| Ordo | <i>Sacchamycetales</i> |
| Keluarga | <i>Saccharomycetaceae</i> |
| Genus | <i>Saccharomyces</i> |
| Spesies | <i>Saccharomyces cerevisiae</i> |

(Jutono dkk., 1980)

2.6 Hidrolisis

Hidrolisis adalah istilah umum yang dipergunakan untuk menyebut reaksi suatu zat dengan air. Hidrolisis atau dalam bahasa Inggris disebut sebagai “*Hydrolysis*” berasal dari kata “*hydro*” artinya air dan “*lysis*” artinya penguraian, jadi hidrolisis bisa diartikan sebagai penguraian oleh air. Hidrolisis adalah pemecahan molekul gula, pati dan selulosa yang kompleks menjadi molekul monosakarida, mudah dilakukan dalam laboratorium dengan mendidihkan larutan atau suspensi karbohidrat itu dengan larutan asam encer (Fessenden, 1986). Tahap hidrolisis mentransformasi selulosa ke gula terfermentasi. Dua metode umum hidrolisis adalah hidrolisis asam dan hidrolisis enzimatis. Metode hidrolisis lain adalah hidrolisis termal yang sangat jarang digunakan. Hidrolisis enzimatis lebih dipilih karena bekerja pada suhu wajar, menghasilkan rendemen atau *yield* tinggi dengan jumlah yang sedikit, merupakan senyawa alami yang dapat terbiodegradasi dan ramah lingkungan (Wyman, 1994).

2.6.1 Hidrolisis Asam

Hidrolisis asam dapat dilakukan dengan mempergunakan asam kuat anorganik, seperti HCl, HNO₃ dan H₂SO₄ yang dipanaskan pada suhu mendidih, dan dilakukan untuk beberapa jam (Machbubatul, 2008). Asam klorida (HCl) yang sering

digunakan dalam industri, karena garam yang terbentuk tidak berbahaya, selain itu asam klorida (HCl) memiliki sifat mudah menguap sehingga memudahkan dalam pemisahan dari produknya. HCl juga menghasilkan produk yang berwarna terang (Endah dkk., 2007).

Proses hidrolisis dengan menggunakan asam kuat berkonsentrasi rendah selain memberikan hasil penguraian glukosa juga menghasilkan produk samping yang dapat menghambat proses fermentasi. Penghambat yang potensial adalah senyawa Hidroksi Metil Furfural (HMF). Banyaknya inhibitor yang terbentuk pada hidrolisis asam dipengaruhi oleh suhu, waktu, dan konsentrasi asam yang digunakan. Pada suhu dan tekanan yang tinggi, glukosa akan terdegradasi menjadi HMF. Inhibitor tersebut akan mengurangi hasil dan produktivitas mikroorganisme yang digunakan selama proses fermentasi karena bersifat toksik (Yuliana, 2011).

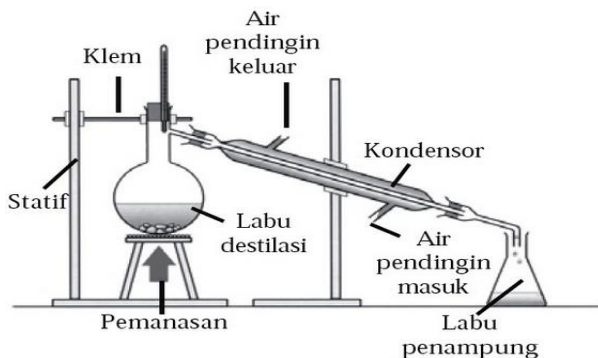
2.6.2 Hidrolisis Enzimatis

Hidrolisis selulosa dapat dilakukan secara enzimatis dan kimiawi. Hidrolisis secara enzimatis dapat dilakukan dengan menggunakan enzim selulase, sedangkan hidrolisis secara kimiawi dapat dilakukan dengan menggunakan asam, yaitu asam kuat konsentrasi rendah maupun asam lemah konsentrasi tinggi. Asam yang digunakan dalam proses hidrolisis selulosa antara lain asam sulfat, asam klorida, asam fosfat, asam nitrat dan asam trifluoroasetat (TFA). Hidrolisis selulosa secara asam dapat dilakukan dengan menggunakan asam kuat encer pada temperatur 160 – 240 °C dan tekanan tinggi, dan dapat dilakukan dengan menggunakan asam pekat pada temperatur 80 – 140 °C dan tekanan rendah. Hidrolisis bahan-bahan berlignoselulosa akan menghasilkan senyawa gula sederhana, seperti glukosa, xilosa, selobiosa dan arabinosa. Hidrolisis dalam suasana asam menghasilkan pemecahan ikatan glikosida (Chang, dkk., 2011).

2.7 Destilasi

Destilasi adalah suatu metode pemisahan campuran yang didasarkan pada perbedaan tingkat volalitas (kemudahan suatu zat untuk menguap) pada suhu dan tekanan tertentu. Destilasi merupakan proses fisika dan tidak terjadi adanya reaksi kimia selama proses berlangsung.

Dasar utama pemisahan dengan cara destilasi adalah perbedaan titik didih cairan pada tekanan tertentu. Proses destilasi biasanya melibatkan suatu penguapan campuran dan diikuti dengan proses pendinginan dan pengembunan. Destilasi mempunyai peranan yang sangat banyak dalam kehidupan manusia. Destilasi adalah kunci utama dalam pemisahan fraksi-fraksi minyak bumi. Minyak bumi dipisahkan menjadi fraksi-fraksi tertentu didasarkan pada perbedaan titik didih. Alkohol yang terbentuk dari proses fermentasi juga dimurnikan dengan cara destilasi. Minyak-minyak atsiri alami yang mudah menguap dapat dipisahkan melalui destilasi. Banyak sekali minyak atsiri alami yang dapat diperoleh dengan cara destilasi, yakni minyak serai, minyak jahe, minyak cengkeh, dsb. Minyak kayu putih juga didapatkan dengan cara destilasi (Armid, 2009). Rangkaian alat destilasi dapat dilihat pada Gambar 2.5



Gambar 2. 5 Rangkaian alat destilasi (Armid, 2009)

Ada 4 jenis distilasi yang akan dibahas disini, yaitu distilasi sederhana, distilasi fraksionasi, distilasi uap, dan distilasi vakum. Selain itu ada pula distilasi ekstraktif dan distilasi azeotropik homogenous, distilasi dengan menggunakan garam berion, distilasi pressure-swing, serta distilasi reaktif.

1. Destilasi Sederhana

Pada distilasi sederhana, dasar pemisahannya adalah perbedaan titik didih yang jauh atau dengan salah satu komponen bersifat volatil. Jika campuran dipanaskan maka komponen yang titik didihnya lebih rendah akan menguap lebih dulu. Selain perbedaan titik didih, juga perbedaan kevolatilan, yaitu kecenderungan sebuah substansi untuk menjadi gas. Distilasi ini dilakukan pada tekanan atmosfer. Aplikasi distilasi sederhana digunakan untuk memisahkan campuran air dan alkohol.

2. Destilasi Fraksinasi

Fungsi destilasi fraksinasi adalah memisahkan komponen-komponen cair, dua atau lebih, dari suatu larutan berdasarkan perbedaan titik didihnya. Distilasi ini juga dapat digunakan untuk campuran dengan perbedaan titik didih kurang dari 20 °C dan bekerja pada tekanan atmosfer atau dengan tekanan rendah. Aplikasi dari distilasi jenis ini digunakan pada industri minyak mentah untuk memisahkan komponen-komponen dalam minyak mentah. Perbedaan distilasi fraksionasi dan distilasi sederhana adalah adanya kolom fraksionasi. Dikolom ini terjadi pemanasan secara bertahap dengan suhu yang berbeda-beda pada setiap platnya. Pemanasan yang berbeda-beda ini bertujuan untuk pemurnian distilat yang lebih dari plat-plat di bawahnya. Semakin ke atas, semakin tidak volatil cairannya.

3. Destilasi Uap

Distilasi uap digunakan pada campuran senyawa-senyawa yang memiliki titik didih mencapai $200\text{ }^{\circ}\text{C}$ atau lebih. Distilasi uap dapat menguapkan senyawa-senyawa ini dengan suhu mendekati $100\text{ }^{\circ}\text{C}$ dalam tekanan atmosfer dengan menggunakan uap atau air mendidih. Sifat yang fundamental dari distilasi uap adalah dapat mendistilasi campuran senyawa di bawah titik didih dari masing-masing senyawa campurannya. Selain itu distilasi uap dapat digunakan untuk campuran yang tidak larut dalam air di semua temperatur, tapi dapat didistilasi dengan air. Aplikasi dari distilasi uap adalah untuk mengekstrak beberapa produk alam seperti minyak eucalyptus dari eucalyptus, minyak citrus dari lemon atau jeruk, dan untuk ekstraksi minyak parfum dari tumbuhan. Campuran dipanaskan melalui uap air yang dialirkan ke dalam campuran dan mungkin ditambah juga dengan pemanasan. Uap dari campuran akan naik ke atas menuju ke kondensor dan akhirnya masuk ke labu distilat.

4. Destilasi vakum

Distilasi vakum biasanya digunakan jika senyawa yang ingin didistilasi tidak stabil, dengan pengertian dapat terdekomposisi sebelum atau mendekati titik didihnya atau campuran yang memiliki titik didih di atas $150\text{ }^{\circ}\text{C}$. Metode distilasi ini tidak dapat digunakan pada pelarut dengan titik didih yang rendah jika kondensornya menggunakan air dingin, karena komponen yang menguap tidak dapat dikondensasi oleh air. Untuk mengurangi tekanan digunakan pompa vakum atau aspirator. Aspirator berfungsi sebagai penurun tekanan pada sistem distilasi ini (Armid, 2009).

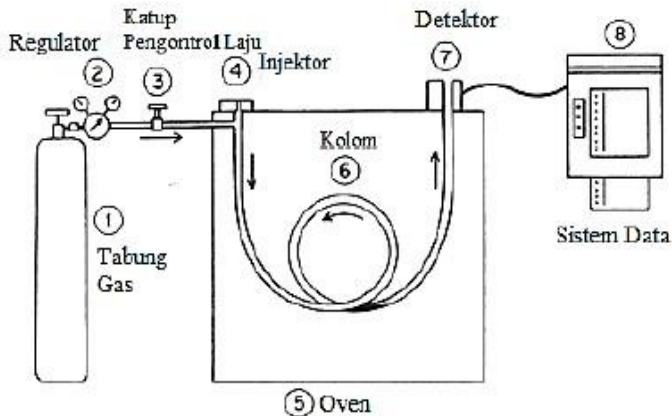
2.8 Karakterisasi

2.8.1 Kromatografi Gas

Definisi kromatografi secara umum menurut *International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC)* adalah metode pemisahan suatu komponen senyawa yang didistribusikan pada dua fase yaitu fase diam dan fase gerak. Komponen - komponen dari suatu campuran dialirkan pada fase diam yang kemudian dibawa oleh aliran fase gerak. Prinsip pemisahan pada kromatografi didasarkan pada perbedaan laju perpindahan antara komponen - komponen pada sampel. Pada kromatografi gas, komponen - komponen dari sampel yang telah menjadi uap akan terfraksinasi dalam kolom karena adanya proses partisi antara fase gerak dan fase diam. Fase diamnya dapat berupa padatan atau cairan yang diikatkan pada suatu matrik padatan inert, sedangkan fase geraknya dapat berupa gas. Gas pembawa ini berupa gas inert seperti N_2 , H_2 , Ar, dan He (McNair, dkk., 2009).

Gas Chromatography merupakan teknik pemisahan dimana solute yang mudah menguap (dan stabil terhadap panas) berpindah melalui kolom yang mengandung fase diam dengan suatu kecepatan tertentu. Pada umumnya solut akan terelusi berdasarkan pada peningkatan titik didihnya, kecuali jika ada interaksi khusus antara solut dengan fase diam. Pemisahan pada GC didasarkan pada titik didih suatu senyawa dikurangi dengan semua interaksi yang mungkin terjadi antara solut dengan fase diam. Fase gerak yang berupa gas akan mengelusi solut dari ujung kolom lalu menghantarkannya ke detektor. Penggunaan suhu yang meningkat (biasanya pada kisaran $50 - 350^\circ C$) bertujuan untuk menjamin bahwa solut menguap sehingga akan cepat terelusi (Gandjar, dkk., 2007). Mekanisme kerja kromatografi gas yaitu gas dalam silinder baja bertekanan tinggi dialirkan melalui kolom yang berisi fase diam, cuplikan berupa campuran yang akan dipisahkan, biasanya dalam bentuk larutan, disuntikkan kedalam aliran gas tersebut kemudian cuplikan dibawa oleh gas pembawa kedalam kolom dan

di dalam kolom terjadi proses pemisahan. Komponen - komponen campuran yang telah terpisahkan satu persatu meninggalkan kolom



kemudian terdeteksi oleh detektor, bagian-bagian GC yaitu gas pembawa, regulator, katup pengontrol laju, injektor, kolom, oven, detektor dan sistem data (Gambar 2.6). (Hendayana, 2006).

Gambar 2. 6 Diagram Instrumen GC (Mc Nair, dkk., 2009)

Jika komponen tersebut terdistribusi lebih besar pada fase gas saat analisis menggunakan GC, maka komponen tersebut akan lebih cepat keluar dari kolom GC. Dalam kromatografi, pemisahan komponen dipengaruhi oleh nilai koefisien partisi yaitu perbandingan konsentrasi zat terlarut pada fase diam dengan fase gerak. Semakin besar nilai koefisien partisi (k) maka komponen akan bergerak lebih lama dalam kolom karena semakin besar pula daya tarik terhadap fase diam (Mc. Nair dkk., 2009).

2.8.2 Spektrofotometer UV - Vis

Spektrofotometer merupakan alat yang digunakan untuk mengukur absorbansi dengan cara melewatkan cahaya dengan panjang gelombang tertentu pada suatu objek kaca atau kuarsa yang disebut kuvet. Sebagian dari cahaya tersebut akan di serap

dan sisanya akan dilewatkan. Nilai absorbansi dari cahaya yang di serap sebanding dengan konsentrasi larutan di dalam kuvet (Sastrohamidjojo, 2007).

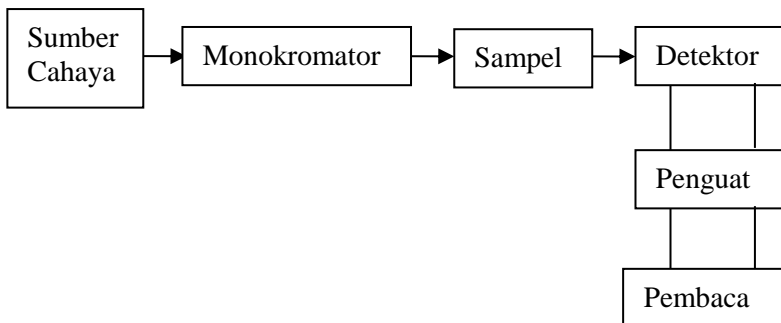
Spektrofotometri UV - Vis merupakan instrumentasi yang digunakan untuk mengukur serapan yang dihasilkan dari interaksi antara kimia antara radiasi elektromagnetik dengan molekul atau atom dari suatu zat kimia pada daerah sinar ultraviolet (190 – 380 nm) dan sinar tampak (380 – 780 nm). Jangkauan panjang gelombang yang tersedia untuk pengukuran membentang dari panjang gelombang pendek ultraviolet sampai ke garis inframerah (Skoog, 1998).

Prinsip dari spektrofotometri UV - Vis adalah mengukur jumlah cahaya yang diabsorpsi atau ditransmisikan oleh molekul-molekul di dalam larutan, sebagian energi cahaya tersebut akan diserap (absorpsi). Besarnya kemampuan molekul-molekul zat terlarut untuk mangabsorpsi cahaya pada panjang gelombang tertentu dikenal dengan istilah absorbansi (A). Nilai absorbansi setara dengan nilai konsentrasi larutan tersebut dan panjang berkas cahaya yang dilalui pada suatu point dimana presentase jumlah cahaya yang ditransmisikan atau diabsorpsi diukur dengan *phototube* (Harmita, 2006).

Data yang diperoleh dengan spektrofotometri UV - Vis biasanya berupa panjang gelombang maksimum (λ maks). Panjang gelombang maksimum merupakan panjang gelombang dimana terjadinya eksitasi elektronik yang memberikan absorban yang terbesar. Penentuan panjang gelombang maksimum yang pasti (tetap) dapat dipakai untuk identifikasi molekul yang bersifat karakteristik sebagai data sekunder. Dengan demikian spektrum UV - Vis dapat dipakai untuk tujuan analisis kualitatif dan kuantitatif. Sedangkan pokok kegunaan analisis spektrofotometri UV - Vis adalah untuk analisis kuantitatif karena melibatkan energi eksitasi yang cukup besar (Mulja dkk., 1995).

Dalam penelitian ini instrumentasi UV - VIS digunakan dalam pembuatan kurva pertumbuhan bakteri dan mengukur pengurangan intensitas warna. Kurva pertumbuhan bakteri merupakan kurva yang menunjukkan fase - fase pertumbuhan bakteri semakin keruh dari larutan maka pertumbuhan bakteri semakin bertambah hal ini dikarenakan bakteri mengalami fase pertumbuhan (Maier, 2009).

Secara umum skema alat spektrofotometer UV - Vis dijelaskan pada Gambar 2.7



Gambar 2. 7 Skema alat spektrofotometer UV - Vis (Mulja, dkk., 1995).

2.8.3 Turbidimetri

Turbidimetri merupakan analisis kuantitatif yang didasarkan pada pengukuran kekeruhan atau turbiditas dari suatu larutan akibat adanya suspensi partikel padat dalam larutan. Turbidimetri adalah analisa yang berdasarkan hamburan cahaya. Hamburan cahaya terjadi akibat adanya partikel yang terdapat dalam larutan. Partikel ini menghamburkan cahaya ke segala arah yang mengenainya. Turbidimetri adalah pengukuran spesies hamburan cahaya dalam larutan dengan memanfaatkan intensitas cahaya berkas masuk setelah dilewatkan melalui larutan (Khopkar, S. M., 2004).

Metode Turbidimetri merupakan metode pengukuran jumlah sel bakteri berdasarkan kekeruhan. Metode ini mengukur

pengurangan intensitas cahaya pada spektrofotometer akibat adanya penghamburan cahaya oleh sel-sel bakteri yang ada pada kuvet. Adanya penghamburan cahaya tersebut mengakibatkan turunnya intensitas cahaya yang akan dinotasikan sebagai suatu nilai. Semakin besar nilai tersebut menunjukkan semakin banyak jumlah sel bakteri yang ada didalam kuvet (Widdel, 2010).

Turbidimetri digunakan larutan yang berupa koloid atau tersuspensi. Larutan jernih juga dapat diukur dengan metoda ini dengan jalan memberikan emulgator untuk mengemulsi larutan. Larutan tersuspensi atau koloid mengandung partikel yang berukuran besar dari 10^{-10} cm. Ukuran partikel ini biasanya dapat dilihat dengan mata. Kegunaan metode turbidimetri antara lain untuk menentukan kadar senyawa tertentu yang terdapat pada suatu tempat yaitu dengan merubahnya terlebih dahulu menjadi senyawa yang sulit larut, kemudian diberi emulgator. Contohnya penentuan kadar kalsium dalam suatu batuan, dimana sebelumnya kalsium diubah menjadi kalsium karbonat yang sulit larut, kemudian ditambahkan emulgator.

Analisa kuantitatif secara turbidimetri didasarkan pada intensitas cahaya yang diteruskan, setelah cahaya tersebut melalui larutan yang mengandung partikel-partikel tersuspensi dari zat yang dianalisa. Hamburan yang terukur pada alat turbidimeter adalah hamburan yang diteruskan atau yang membentuk sudut 180^0 . Sedangkan hamburan yang membentuk sudut 90^0 , hamburannya terdeteksi oleh alat nefelometer (Khopkar, S. M., 2004).

“Halaman ini sengaja dikosongkan”

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Alat dan Bahan

3.1.1 Alat

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu: Erlenmeyer bertutup spons, gelas beker, neraca digital, jarum ose, cawan petri steril, gelas ukur, pipet volume, propipet, rangkaian alat destilasi, labu ukur, pH meter, laminari flow, pemanas, thermometer, blender, *autoclave*, tabung *falcone*, sentrifuge, *incubator shaker*, spektrofotometer UV-VIS *genesis 10S*, Spektrofotometer FTIR 8400S, kromatografi gas dengan kolom HP-1.

3.1.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah bakteri *Z. Mobillis* diperoleh dari koleksi bakteri Laboratorium Kimia Mikroorganisme Departemen Kimia FIA ITS, *S. Cerevisiae* dari ragi roti komersial (fermipan), eceng gondok yang didapat di sungai sekitar kampus ITS Sukolilo, glukosa (SAP Chemicals), *yeast ekstrak* (HIMEIDA), nutrient agar, nutrient broth, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (SAP Chemicals 99,0%), $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (SAP Chemicals 99,0%), KH_2PO_4 (SAP Chemicals 98,0%), H_2SO_4 (SAP CHEMICALS 98,0%), NaOH (SAP CHEMICALS 98,0%), kertas saring (Whatman 41), fenol (SAP Chemicals 5,0%), pereaksi Samogyi – Nelson, alkohol teknis, dan Aqua DM.

3.2 Prosedur Penelitian

3.2.1 Penentuan Kurva Standar Gula Reduksi

Kurva standar glukosa di buat dengan larutan glukosa di buat dengan variasi konsentrasi 0, 10, 20, 30, 40, 50, dan 60 ppm sebanyak 1 mL larutan tersebut dimasukkan dalam masing masing tabung reaksi kemudian ditambahkan larutan fenol 5% sebanyak 1 mL kemudian ditambahkan H_2SO_4 pekat sebanyak 5 mL setelah itu

larutan diaduk sampai tercampur sempurna, kemudian larutan dibiarkan dalam *Water Bath* selama 10 menit. Setelah 10 menit larutan diaduk kembali sampai teraduk sempurna kemudian larutan dibiarkan kembali dalam *Water Bath* selama 20 menit. Setelah homogen kemudian diukur absorbansinya dengan menggunakan spektrofotometer UV - Vis pada panjang gelombang 490 nm Kurva standar glukosa dibuat dengan membuat grafik hubungan antara kadar glukosa sebagai absis dan absorbansi sebagai ordinat (Dubois dkk., 1956).

3.2.2 Regenerasi Bakteri

Bakteri yang digunakan dalam penelitian ini adalah bakteri *Z. Mobillis*. Bakteri tersebut diperoleh dari koleksi bakteri Labolatorium Kimia Mikroorganisme Departemen Kimia FIA ITS. Bakteri diambil dengan ose dan diinokulasikan ke dalam cawan petri yang berisi medium agar NA dan diinkubasi pada suhu 30°C selama 24 jam. Media ini menjadi stok kultur baru (Maisaroh, 2009).

3.2.3 Pembuatan Kurva Pertumbuhan Bakteri *Z. Mobillis*

Kurva pertumbuhan bakteri *Z. Mobillis* dibuat dari bakteri yang sudah diregenerasi diambil sebanyak satu ose dan di inokulasikan kedalam 10 mL media yang sebelumnya di *autoclave* pada suhu 121 °C selama 15 menit yang terdiri dari 1g/L glukosa, 0,05g/L *yeast ekstrak*, 0,005g/L $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,01g/L $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 0,01g/L KH_2PO_4 media ini sebagai starter awal. Media ini di inkubasi pada suhu 30 °C selama 24 jam dalam shaker dengan kecepatan 120 rpm. Sebanyak 1 mL kultur dimasukkan ke dalam 500 mL media yang terdiri dari 50g/L glukosa, 2,5g/L *yeast ekstrak*, 0,25g/L $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,5g/L $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 0,5g/L KH_2PO_4 . Media ini kemudian di inkubasi pada suhu 30 °C dalam shaker dengan kecepatan 180 rpm. Selama proses inkubasi, pertumbuhan bakteri diamati dengan cara

mengukur optikal densitasnya pada panjang gelombang 600 nm (OD_{600}) setiap jam (Awwalurrizki, 2009).

3.2.4 Preparasi Sampel Biomassa Eceng Gondok

Eceng gondok yang digunakan pada penelitian ini adalah eceng gondok yang tumbuh di perairan sekitar ITS. Eceng gondok dicuci sampai bersih menggunakan air bersih hingga tidak ada kotoran yang menempel kemudian eceng gondok dipisahkan dari batang, dahan, dan akar. Kemudian eceng gondok dipotong kecil-kecil seukuran ibu jari setelah itu potongan eceng gondok direbus menggunakan akuades yang sudah dipanaskan pada suhu 100 °C. Perebusan eceng gondok dilakukan sampai eceng gondok layu kemudian eceng gondok yang sudah layu dihancurkan dengan blender sampai menjadi bubur eceng gondok, bubur eceng gondok kemudian disaring untuk memisahkan antara filtrat dan residu (Tanaka dkk., 1999).

3.2.5 Hidrolisis Biomassa Eceng Gondok dengan Asam Encer

Sebanyak 200 mL larutan eceng gondok ditambahkan dengan 20 gram residu eceng gondok, setelah itu ditambahkan larutan H_2SO_4 5% sebanyak 200 mL ke dalam *erlenmeyer* 1000 mL, kemudian larutan di *autoclave* selama 1 jam dengan suhu 121 °C, setelah di *autoclave* larutan disaring dan dipisahkan antara filtrat dan residu filtrat kemudian dinetralkan menggunakan NaOH hingga pH menjadi 5 (Harun dkk., 2011).

3.2.6 Pembuatan Media Fermentasi

Media fermentasi dibuat sebanyak 200 mL untuk setiap *erlenmeyer*, kemudian hidrolisat eceng gondok tersebut yang sudah diatur pH nya ditambahkan dengan KH_2PO_4 1,0 g/L, $(NH_4)_2SO_4$ 1,0 g/L, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0,5 g/L. kemudian media fermentasi ini disterilkan menggunakan *autoclave* pada suhu 121 °C selama 15 menit (Tanaka dkk., 1999).

3.2.7 Penyediaan Bakteri *Z. mobilis* dan *S. cerevisiae* untuk Proses Fermentasi Pada Hidrolisat Eceng Gondok

Bakteri *zymomonas mobilis* yang sudah diregenerasi diambil sebanyak satu ose dan di inokulasikan kedalam 10 mL media yang terdiri dari 1g/L glukosa, 0,05g/L *yeast ekstrak*, 0,005g/L $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,01g/L $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 0,01g/L KH_2PO_4 media ini sebagai starter awal, kemudian media ini di inkubasi pada suhu 30 °C selama 24 jam dalam shaker dengan kecepatan 120 rpm.

Media pembiakan kultur *Z. Mobilis* yang telah di inokulasi sebelumnya diambil sebanyak 1 mL lalu dimasukkan dalam media sebanyak 200 mL yang terdiri dari 0,2g/L KH_2PO_4 , 0,2g/L $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 0,1g/L $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 1g/L *yeast ekstrak*, 20g/L glukosa. Yang sebelumnya sudah di *autoclave* pada suhu 121 °C selama 15 menit. Media ini di *shaker* dengan kecepatan 180 rpm dan suhu sebesar 30 °C selama 24 jam. Setelah 24 jam media tersebut di pisahkan dengan cara sentrifugasi dimana didapatkan filtrat dan residu dari media *Z. Mobilis* residu kemudian diambil sebanyak 5 gram masukkan dalam media fermentasi (Maisaroh, 2009).

Starter *S. Cerevisiae* dibuat dari media yang terdiri dari 0,1g/L KH_2PO_4 , 0,1g/L $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 0,05g/L $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,5g/L *yeast ekstrak*, 10g/L glukosa yang sebelumnya sudah di *autoclave* dengan suhu 121 °C selama 15 menit. Kemudian media yang sudah dingin di tambahkan *S. Cerevisiae* seberat 1 gram. Media ini kemudian di *shaker* dengan kecepatan 180 rpm dan suhu sebesar 30 °C selama 24 jam. Setelah 24 jam media tersebut di pisahkan dengan cara sentrifugasi dimana didapatkan filtrat dan residu dari media *S. Cerevisiae* residu kemudian diambil sebanyak 10 gram dimasukkan dalam media fermentasi (Ndaba, dkk., 2014).

Proses fermentasi ini dilakukan pada inkubator *shaker* dengan kecepatan 90 rpm dengan suhu 30 °C. Hasil fermentasi diambil pada 12 jam, 24 jam, 36 jam, 48 jam, dan 60 jam untuk

disentrifugasi dan diambil filtratnya. Filtrat hasil fermentasi diuji kandungan residu glukosa, filtrat hasil fermentasi kemudian di destilasi pada suhu 79 °C – 80 °C. filtrat hasil destilasi yang di peroleh di uji kadar etanolnya menggunakan instrumentasi GC (Maisaroh, 2009).

3.3 Metode Analisa

3.3.1 Analisa Gula Reduksi

Penentuan kadar gula reduksi pada sampel dilakukan dengan cara yang sama dengan penentuan kadar gula reduksi standar. Konsentrasi glukosa sebagai gula reduksi ditentukan berdasarkan absorbansi larutan pada sampel.

Sebanyak 1 mL larutan tersebut dimasukkan dalam masing masing tabung reaksi kemudian masing masing tabung reaksi tersebut ditambahkan fenol sebanyak 1 ml kemudian ditambahkan H₂SO₄ sebanyak 5 mL setelah itu larutan diaduk sampai tercampur sempurna, kemudian larutan dibiarkan dalam *Water Bath* selama 10 menit. Setelah 10 menit larutan diaduk kembali sampai teraduk sempurna kemudian larutan dibiarkan kembali dalam *Water Bath* selama 20 menit. Setelah homogen kemudian diukur absorbansinya dengan menggunakan spektrofotometer UV - Vis pada panjang gelombang 490 nm (Dubois dkk., 1956).

3.3.2 Analisa Kadar Etanol

Pada penelitian ini untuk menganalisa kadar etanol hasil fermentasi eceng gondok oleh bakteri *Z. Mobillis* dan *S. Cerevisiae*, sampel cairan di sentrifugasi pada kecepatan 2000 rpm selama 15 menit. Supernatan kemudian di destilasi pada suhu 79 °C – 80 °C. Kadar etanol dalam destilat kemudian dianalisis dengan kromatografi gas GC7900 detektor TCD pada suhu 250 °C dengan kolom HP PLOT Q dengan suhu oven awal sebesar 200 °C. konsentrasi etanol dalam cairan fermentasi dihitung dengan asumsi bahwa seluruh etanol dalam cairan fermentasi dapat terambil oleh destilat (Maisaroh, 2009).

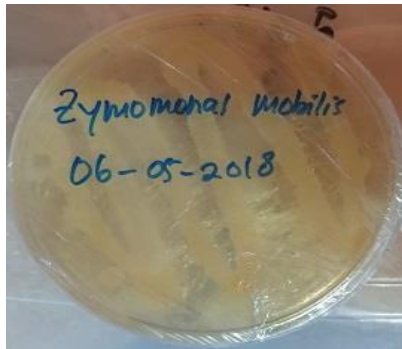
“Halaman ini sengaja dikosongkan”

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Regenerasi Bakteri *Z. Mobillis*

Mikroorganisme yang digunakan dalam penelitian ini adalah bakteri *Z. Mobillis*. Bakteri *Z. Mobillis* memiliki karakteristik sebagai bakteri gram negatif, anaerob tetapi toleran terhadap oksigen atau bisa disebut anaerob fakultatif, mampu memfermentasi glukosa dan fruktosa menghasilkan sejumlah etanol dan CO₂ (Levett, 1990).

Biakan murni dari *Z. Mobillis* ditampilkan pada Gambar 4.1, secara berkala perlu dilakukan regenerasi pada media padat yaitu *Nutrient Agar* (NA) untuk meremajakan umur bakteri. *Nutrient Agar* merupakan media yang dibutuhkan bakteri *Z. Mobillis* sebagai sumber nutrisi untuk pertumbuhan.



Gambar 4. 1 Regenerasi bakteri *Zymomonas Mobillis* pada media cawan petri.

Media secara mikrobiologi merupakan makanan yang digunakan oleh mikroorganisme untuk pertumbuhannya. Media untuk pertumbuhan mikroorganisme (bakteri atau *yeast*) harus benar-benar mampu menyediakan kebutuhan nutrisi dasar bagi mikroorganisme tersebut untuk tumbuh. Kebutuhan nutrisi dasar bagi mikroorganisme terdiri dari sumber karbon, nitrogen, fosfor,

sulfur, dan air serta berbagai nutrisi mineral seperti besi dan magnesium. Dalam hal ini *Nutrient Agar* (NA) merupakan media yang memenuhi kebutuhan nutrisi bakteri *Z. Mobillis* (Gunasekaran dkk., 2002).

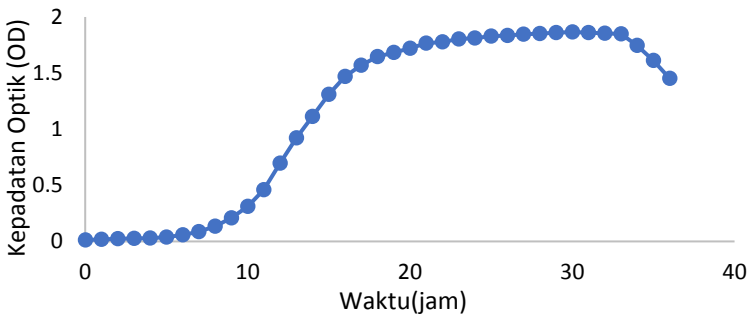
4.2 Kurva Pertumbuhan Bakteri *Z. Mobillis*

Pembuatan kurva standar bakteri pada penelitian ini bertujuan untuk mencari waktu fasa stasioner dari bakteri *Z. Mobillis*. Fasa stasioner bakteri perlu dicari karena pada fase tersebut bakteri memiliki kemampuan yang optimal untuk membelah diri (Maier, 2009).

Pembuatan kurva standar dalam penelitian ini dilakukan dengan metode turbidimetri pada *optical density* OD₆₀₀. Metode turbidimetri merupakan metode pengukuran jumlah sel bakteri berdasarkan kekeruhan. Metode ini mengukur pengurangan intensitas cahaya pada spektrofotometer akibat adanya penghamburan cahaya oleh sel - sel bakteri yang ada pada kuvet. Adanya penghamburan cahaya tersebut mengakibatkan turunnya intensitas cahaya yang akan dinotasikan sebagai suatu nilai. Semakin besar nilai tersebut menunjukkan semakin banyak jumlah sel bakteri yang ada didalam kuvet (Widdel, 2010). OD₆₀₀ menunjukkan bahwa pada penelitian ini digunakan cahaya pada panjang gelombang 600 nm dalam pembuatan kurva pertumbuhan. Panjang gelombang 600 nm dipilih karena pada warna kultur bakteri dimana 540 nm digunakan untuk kultur yang berwarna kuning terang dan 600 - 625 nm digunakan untuk kultur yang berwarna kuning - coklat (Ashari, 2013).

Kurva pertumbuhan dibuat dengan cara meregenerasi bakteri kedalam 20 mL media kompleks dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 30°C. Regenerasi tersebut bertujuan untuk mengaktifkan kembali sel bakteri yang sebelumnya disimpan sebagai stok. Selanjutnya kultur hasil regenerasi masing-masing bakteri diambil sebanyak 1 mL dan diinokulasikan kedalam 500

mL media kompleks dan diinkubasi pada suhu 30 °C sampai diperoleh fasa kematian bakteri. Selama masa inkubasi, absorbansi bakteri diukur setiap jamnya dengan spektrofotometer pada OD₆₀₀ untuk mengetahui fase pertumbuhan dari *Z. Mobillis*. Dalam penelitian ini diperoleh data kurva pertumbuhan *Z. Mobillis* seperti pada Gambar 4.2.



Gambar 4. 2 Kurva Pertumbuhan *Z. Mobillis*

Pada Gambar 4.2 dapat diketahui bahwa *Z. Mobillis* mengalami fase *lag* (lambat) hingga jam ke -7 atau 7 jam pertama. Pada fase ini bakteri cenderung tidak mengalami pertumbuhan populasi, bakteri hanya mengalami perubahan komposisi kimiawi dalam menyesuaikan diri dengan lingkungan. Dari Gambar 4.2 terlihat bahwa fase *lag* hanya berlangsung selama 7 jam kecepatan fase *lag* tergantung dari medium dan lingkungan pertumbuhan sebelumnya, jika medium dan lingkungan pertumbuhannya sama dengan sebelumnya maka fase *lag* akan lebih cepat (Waluyo, 2007).

Setelah 7 jam bakteri mulai membelah diri dipercepat dengan laju konstan, massa menjadi dua kali lipat, keadaan pertumbuhan menjadi seimbang. Fase ini disebut dengan fase logaritma dan berlangsung sejak jam ke- 7 hingga puncaknya jam

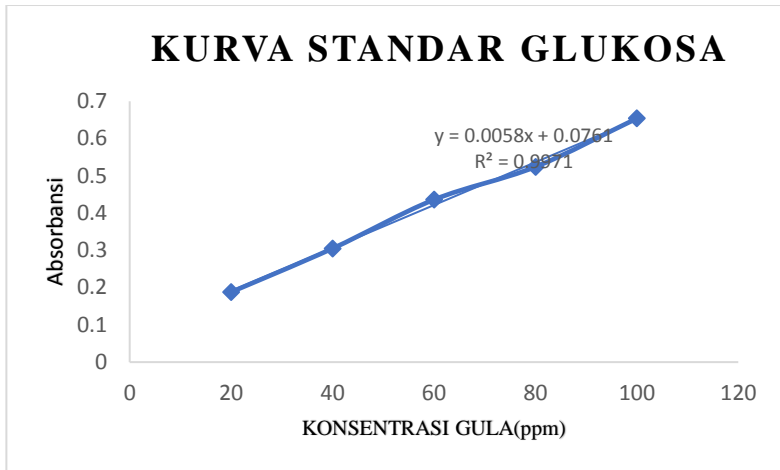
ke- 20. Pada jam ke- 20 yang merupakan puncak dari fase *lag* merupakan saat yang tepat mengadakan biakan untuk dijadikan inokulum pada proses fermentasi selanjutnya (Irianto, 2007).

Pada jam ke- 20 hingga jam ke- 32 bakteri tidak lagi mengalami pertumbuhan dan cenderung konstan, fase ini disebut fase *Stationary*. Pada fase ini terjadi penumpukan racun akibat metabolisme sel dan kandungan nutrisi mulai habis, akibatnya terjadi kompetisi nutrisi sehingga beberapa sel mati dan lainnya tetap tumbuh sehingga jumlah sel menjadi tetap. Fase terakhir adalah fase *Death* (kematian) yang terjadi setelah jam ke- 32. Pada fase ini terjadi penumpukan racun dan habisnya nutrisi menyebabkan jumlah sel yang mati lebih banyak sehingga mengalami penurunan jumlah sel secara eksponensial (Wlay, dkk., 1992).

Melihat kurva pertumbuhan bakteri diatas maka untuk penelitian selanjutnya, inokulasi bakteri dilakukan setelah diinkubasi selama 20 jam sejak bakteri dibiakkan. Dengan demikian bakteri telah mengalami adaptasi dan memiliki ukuran yang lebih seragam, dengan harapan mampu bekerja lebih baik dalam proses fermentasi.

4.3 Kurva Standar Glukosa

Pada penelitian ini untuk mengetahui jumlah glukosa yang ada pada hasil fermentasi maka dibuat kurva standar glukosa dengan menggunakan metode analisa gula total secara spektrofotometri. Kurva standar diperoleh dengan mengalurkan absorbansi terhadap konsentrasi larutan glukosa monohidrat pada panjang gelombang (λ) 490 nm. Dimana nilai absorbansi mengalami kenaikan dengan semakin besarnya konsentrasi larutan glukosa monohidrat sehingga diperoleh persamaan garis antara konsentrasi dan absorbansi yaitu $y = 0.011x - 0.0023$ yang dapat dilihat pada Gambar 4.3.



Gambar 4. 3 Kurva Standar Glukosa

Kurva standar glukosa dibuat dari larutan glukosa dengan kadar 0, 10, 20, 30, 40, 50 dan 60 ppm. Sebanyak 1 ml larutan tersebut dimasukkan dalam masing-masing tabung reaksi dan kemudian ditambahkan dengan larutan fenol 5% sebanyak 1 ml yang berfungsi untuk mengubah senyawa karbohidrat menjadi senyawa yang lebih sederhana. Ke dalam tabung reaksi ditambahkan H_2SO_4 pekat sebanyak 5 ml yang bertujuan untuk menstabilkan warna jingga yang dihasilkan. Setelah itu, larutan diaduk sampai tercampur sempurna dan direndam dalam *Water Bath* selama 10 menit. Setelah 10 menit larutan diaduk sampai teraduk sempurna dan direndam kembali dalam *Water Bath* selama 20 menit. Larutan yang telah homogen kemudian diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV - Vis pada panjang gelombang 490 nm. (Dubois dkk., 1956).

4.4 Preparasi Eceng Gondok

Eceng gondok yang digunakan pada penelitian ini adalah eceng gondok yang tumbuh di perairan sekitar ITS. Eceng gondok dicuci sampai bersih menggunakan air bersih hingga tidak ada

kotoran yang menempel kemudian eceng gondok dipisahkan dari batang, daun dan akar. Kemudian eceng gondok dipotong kecil kecil seukuran ibu jari setelah itu potongan eceng gondok direbus menggunakan akuades yang sudah di panaskan pada suhu 100 °C. Perebusan eceng gondok dilakukan sampai eceng gondok layu kemudian eceng gondok yang sudah layu di hancurkan dengan blender sampai menjadi bubur eceng gondok, bubur eceng gondok kemudian disaring untuk memisahkan antara filtrat dan residu. Filtrat yang sudah diperoleh ditambahkan 20 gram residu kemudian ditambahkan dengan H₂SO₄ 5%. Setelah itu di *autoclave* selama 1jam pada suhu 121 °C setelah di *autoclave* larutan di saring untuk memisahkan filtrat dan residu kemudian di netralkan dengan NaOH sampai pH menjadi 5. Setelah pH menjadi 5 larutan eceng gondok ditambahkan dengan 0,2gram KH₂PO₄, 0,2gram (NH₄)₂SO₄, 0,1gram MgSO₄.7H₂O setelah dilakukan penambahan mineral larutan eceng gondok kemudian di *autoclave* selama 15 menit pada suhu 121 °C.

Pencucian eceng gondok bertujuan untuk menghilangkan kotoran yang menempel pada eceng gondok, setelah pencucian dilakukan pemotongan batang eceng gondok yang berfungsi untuk mempermudah penghalusan eceng gondok menjadi bubur eceng gondok. Bubur eceng gondok ditambahkan dengan asam ini merupakan tahapan perlakuan awal terhadap bahan baku yang bertujuan untuk memecahkan kandungan lignin dari selulosa dan hemiselulosa yang terkandung di dalam bahan baku. Perlakuan ini sangat dibutuhkan untuk mengubah struktur dan komposisi kimia bahan baku agar proses hidrolisis karbohidrat menjadi gula fermentasi dapat berjalan dengan mudah dan efisien.

Larutan eceng gondok setelah mengalami penambahan H₂SO₄ kemudian dinetralkan pH nya menjadi 5 ini dikarenakan untuk menyesuaikan dengan pertumbuhan bakteri *Z. Mobillis* yang dapat tumbuh pada pH 5. Pemberian mineral bertujuan untuk

memberikan sumber makanan pada bakteri yang akan melalui proses fermentasi (Chang dkk., 2011).

4.5. Persiapan Media Fermentasi dan Kultur Cair

Media pertumbuhan mikroorganisme adalah larutan berbentuk gel (semi padat) atau cair yang mengandung berbagai zat nutrisi yang diperlukan untuk pertumbuhan mikroorganisme.

Media pada penelitian ini dibedakan menjadi 2 yaitu media padat untuk regenerasi bakteri *Z. Mobillis* dan media cair untuk fermentasi glukosa. Media padat terbuat dari *nutrient agar* (NA) yang digunakan untuk regenerasi *Z. Mobillis*, media *nutrient agar* (NA) terdiri dari 0,5% pepton, 0,3% ekstrak daging atau ekstrak ragi, 1,5% agar agar, 0,5% NaCl, dan air suling yang merupakan *nutrient* untuk pertumbuhan bakteri. Untuk pembuatan *nutrient agar* dilarutkan bubuk NA sebanyak 28 g/L ke dalam air. Supaya bubuk NA larut sempurna dengan air maka perlu dilakukan penghomogenan dengan pemanasan sampai larutan jernih, setelah itu larutan disterilisasi dengan *autoclave* pada suhu 121 °C selama 15 menit. Medium NA yang sudah di *autoclave* kemudian dituang dalam cawan petri yang sudah di sterilisasi, penggunaan cawan petri bertujuan untuk memperluas permukaan medium sehingga bakteri dapat tumbuh dengan baik, setelah medium NA memadat, diinokulasikan biakan *Z. Mobillis* dengan gerakan zig-zag dan di inkubasi selama 24 jam.

Media cair menggunakan komposisi yang terdiri dari 1g/L glukosa, 0,05g/L *yeast ekstrak*, 0,005g/L $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,01g/L $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 0,01g/L KH_2PO_4 yang dilarutkan dalam 10ml aquades media ini sebagai starter awal, kemudian media ini di inkubasi pada suhu 30 °C selama 24 jam dalam shaker dengan kecepatan 120 rpm. Penggunaan glukosa berfungsi sebagai sumber karbon, *yeast extract* berfungsi sebagai sumber asam amino, *growth factor* dan berbagai vitamin yang dibutuhkan. Magnesium (Mg) dalam $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ berperan dalam satabilisasi ribosom,

stabilisasi membran dan dinding sel serta berfungsi sebagai kofaktor enzim dengan jalur *Entner Doudoroff*. Nitrogen di dalam $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ berfungsi sebagai sumber nitrogen yang berguna bagi pembentukan asam nukleat dan asam-asam amino. Ion K^+ dalam KH_2PO_4 merupakan kofaktor enzim (Tao, 2003).

Media fermentasi dalam penelitian ini diatur pH-nya dalam rentang 5,00 hingga 6,00 karena merupakan pH optimum untuk proses pertumbuhan *Z. Mobillis*, pengaturan pH dilakukan dengan penambahan H_2SO_4 dan NaOH . Pembuatan media stok kultur dibuat dari 0,2g/L KH_2PO_4 , 0,2g/L $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 0,1g/L $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 1g/L *yeast* ekstrak, 20g/L glukosa yang dilarutkan dalam 200ml aquades kemudian di *autoclave* selama 15 menit dengan suhu 121 °C. Media ini yang akan jadi media pertumbuhan bakteri untuk proses fermentasi (Tao, 2003).

4.6. Fermentasi Eceng Gondok dengan *Z. Mobillis* dan *S.*

Cerevisiae

Pada penelitian ini dilakukan variasi fermentasi 12, 24, 36, 48 dan 60 jam. Fermentasi dilakukan secara anareob dengan pengadukan perlahan menggunakan *shaker* yang tertutup dengan kecepatan 80 rpm. Hal ini bertujuan untuk penghomogenan larutan supaya bakteri tidak mengendap, sehingga dapat mengoptimalkan proses fermentasi. Hal ini karena bakteri *Z. Mobillis* bersifat anaerob fakultatif (mampu tumbuh dalam lingkungan tanpa atau dengan oksigen). Kemampuan bakteri *Z. Mobillis* yang berhasil memfermentasi dan mengubah glukosa menjadi etanol di dalam media fermentasi diindikasikan dengan adanya produksi gas yang ada di dalam media tersebut. Proses fermentasi ini terjadi pada suhu 25 °C sampai 30 °C selama 1 - 9 hari. Bakteri *Z. Mobillis* dapat bekerja karena adanya suasana anaerobik dan gula primer yaitu glukosa. Proses fermentasi juga menunjukkan turbiditas yang besar dan bau yang tidak sedap. Hal ini terjadi karena pembusukan yang terjadi selama proses fermentasi (Pancasning, 2008).

4.6.1 Produksi Biomassa *Z. Mobillis*

Jumlah biomassa sangat mempengaruhi produksi etanol. Waktu panen biomassa dapat dilihat dari kurva pertumbuhan pada Gambar 4.2. Bentuk kurva dan lama pertumbuhan suatu mikroorganisme digunakan untuk menentukan umur optimum mikroorganisme untuk memproduksi. Pertumbuhan bakteri mengalami beberapa fase yaitu fase adaptasi atau fase lag dimana pada fase ini bakteri menyesuaikan dengan substrat dan lingkungannya, pada fase adaptasi belum terjadi pembelahan sel dan jumlah sel pada fase ini relatif tetap.

Fase berikutnya terjadi peningkatan kecepatan pertumbuhan yang disebut fase eksponensial (log). Sel mulai membelah dengan kecepatan pertumbuhan yang sangat rendah kemudian memperbanyak jumlah sel meningkat sampai pada batas tertentu. Pertumbuhan menjadi semakin lambat karena zat nutrisi dalam medium berkurang.

Fase selanjutnya yaitu fase stasioner yaitu keadaan sel yang membelah sama dengan sel yang mati. Berdasarkan tipe produk metabolisme yang dihasilkan selama pertumbuhan dikenal dengan dua tipe yaitu metabolit primer (enzim, asam organik, dan alkohol) dihasilkan pada fase eksponensial dan metabolit sekunder dihasilkan selama fase stasioner (Standbury, dkk., 1984).

Biomassa *Z. Mobillis* yang digunakan pada proses fermentasi ditumbuhkan pada media kompleks sebanyak 20 mL, kemudian media kompleks 20 mL ini diambil sebanyak 1 mL dan dimasukkan ke dalam 5 buah *erlenmeyer* media kompleks 200 mL. Tujuan dari pembuatan media 20mL ini untuk menghemat bahan yang akan digunakan untuk proses fermentasi. Kemudian media kompleks disimpan dalam *shaker* dengan kecepatan 120 rpm selama 20 jam dengan suhu 30 °C. Setelah 20 jam proses inkubasi, bakteri dipanen dengan cara memisahkan antara bakteri dan media kompleks yang tercampur. Proses pemisahan ini menggunakan alat sentrifugasi dengan kecepatan 2000 rpm selama 20 menit. Setelah

proses sentrifugasi, didapatkan filtrat dan residu hasil sentrifugasi, dimana residu yang didapat merupakan biomassa dari bakteri *Z. Mobillis*. Kemudian biomassa bakteri ditimbang seberat 1gram untuk dimasukkan dalam media fermentasi yang sudah dilakukan sebelumnya.

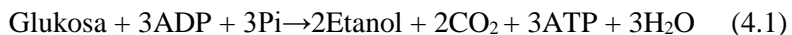
4.6.2 Produksi Biomassa *S. Cerevisiae*

Produksi biomassa dari *S. cerivisiae* didapatkan dengan cara media kompleks sebanyak 100 mL di tambahkan dengan 1gram *S. Cerevsiae* yang diperoleh dari ragi konvensional. Kemudian media yang sudah berisi ragi ini diinkubasi dalam *shaker* dengan kecepatan 120 rpm selama 20 jam dengan suhu 30 °C, hal ini dilakukan karena menyesuaikan dengan kurva pertumbuhan dari bakteri *Z. Mobillis* karena pada proses fermentasi harus memasukkan bakteri secara bersama sama.

Setelah proses inkubasi selama 1 hari selesai larutan kemudian dipisahkan antara filtrat dan residu menggunakan alat sentrifugasi proses pemisahan ini bertujuan untuk mendapatkan residu yang nantinya residu ini akan diambil sebanyak 2gram untuk masing masing variasi waktu fermentasi.

4.6.3 Fermentasi Eceng Gondok dengan *Z. Mobillis* dan *S. Cerevisiae*

Fermentasi merupakan proses yang memanfaatkan kemampuan mikroba untuk menghasilkan metabolit primer dan metabolit sekunder dalam suatu lingkungan yang dikendalikan. *Z. Mobillis* mempunyai laju pertumbuhan yang tinggi terhadap konsentrasi etanol, bakteri ini dapat memfermentasikan gula menjadi etanol dan CO₂. Hasil bersih dari jalur ini adalah menghasilkan 2 etanol + 2 CO₂ dengan persamaan (4.1):



Persamaan tersebut menyatakan bahwa jika 1gram glukosa (sebagai sumber karbon tunggal) difermentasi akan menghasilkan 0,51gram etanol/ gram glukosa. Proses fermentasi etanol ini menggunakan proses fermentasi anaerob, yaitu dengan *shaker* dengan kecepatan 80rpm. Pemakaian *shaker* ini berfungsi sebagai penghomogenan larutan supaya bakteri tidak mengendap sehingga dapat mengoptimalkan proses fermentasi, proses anaerob digunakan karena bakteri *Z. Mobillis* bersifat anaerob fakultatif (mampu tumbuh dalam lingkungan tanpa atau dengan oksigen) (El-mansi, 2007).

Proses fermentasi dilakukan pada variasi 12 jam, 24 jam, 36 jam, 48 jam, dan 60 jam. Proses fermentasi menggunakan biomassa 1gram bakteri *Z. Mobillis* dan 2gram bakteri *S. cerevisiae* untuk proses fermentasi glukosa menjadi etanol. Media fermentasi diatur pH-nya menjadi 5 ini, hal ini dikarenakan bakteri *Z. Mobillis* dapat hidup secara optimum dalam pH 5 - 6. Setelah variasi dari waktu fermentasi telah selesai larutan hasil fermentasi kemudian di sentrifugasi, ini bertujuan untuk memisahkan filtrat dan residu. Filtrat yang terkumpul kemudian ditampung pada labu alat destilasi yang kemudian akan di destilasi pada suhu sekitar 79 – 81 °C selama 5 jam. Hasil dari destilasi kemudian di uji kandungan etanolnya menggunakan instrumentasi kromatografi gas.

Pengukuran kadar glukosa dilakukan setelah proses fermentasi berlangsung, proses ini bertujuan untuk mengetahui sisa glukosa yang terkandung didalam sampel sehingga akan diketahui berapa jumlah glukosa yang dikonsumsi selama proses fermentasi berlangsung. Dari data glukosa dikonsumsi dapat dihitung jumlah etanol teoritis yang terbentuk setiap proses fermentasi selalu memberikan hasil akhir 2 etanol + 2 CO₂ sehingga dapat disimpulkan bahwa setiap 1gram glukosa yang difermentasi selalu menghasilkan 0,5gram etanol (El-mansi dkk., 2007). Jumlah glukosa yang dikonsumsi pada sampel ditampilkan pada Tabel 4.1

beserta glukosa hasil teoritis.

Hasil yang didapatkan dari proses fermentasi kemudian diuji menggunakan gas kromatografi untuk mengetahui kadar etanol dalam sampel hasil fermentasi.

Tabel 4. 1 Tabel konsumsi Glukosa dan Hasil Teoritis

| Waktu Fermentasi (Jam) | Glukosa Awal (gram) | Glukosa Akhir (gram) | Konsumsi Glukosa (gram) | Etanol Teoritis (gram) |
|------------------------|---------------------|----------------------|-------------------------|------------------------|
| 12 | 3,0015 | 1.9904 | 1,0111 | 0,5156 |
| 24 | 3,0015 | 1,9643 | 1,0372 | 0,5289 |
| 36 | 3,0015 | 1,8802 | 1,1213 | 0,5718 |
| 48 | 3,0015 | 1,8576 | 1,1439 | 0,5833 |
| 60 | 3,0015 | 1,6567 | 1,3448 | 0,6858 |

4.7 Hasil Karakterisasi

4.7.1 Gas Kromatografi

Hasil fermentasi yang sudah dilakukan kemudian diuji kadar etanolnya menggunakan instrumentasi gas kromatografi. Untuk mengetahui kadar etanol dalam sampel, digunakan perbandingan luas area sampel yang didapatkan dan luas area standar yang telah diketahui konsentrasinya. Rumus penentuan kadar etanol ditunjukkan pada persamaan (4.2):

$$\% \text{etanol sampel} = \frac{A_{\text{Sampel}}}{A_{\text{Standar}}} \times \text{Konsentrasi Standar} \quad (4.2)$$

A_{Sampel} : Luas puncak Sampel

A_{Standar} : Luas puncak Standar

Dimana standar yang digunakan pada gas kromatografi adalah etanol p.a dengan konsentrasi 98%.

Pada alat kromatografi gas, sampel disuntikkan pada

injektor. Injektor akan menguapkan sampel hingga masuk ke dalam kolom dengan dorongan gas pembawa yaitu gas nitrogen sebagai fase gerak. Fase diam yang digunakan adalah *column* HP PLOT Q. Pada kolom akan terjadi proses pemisahan komponen dari campurannya, komponen-komponen campuran yang telah terpisahkan satu persatu meninggalkan kolom menuju detektor. Detektor yang digunakan adalah detektor TCD (*Thermal Conductivity Detector*), dimana detektor ini digunakan untuk komponen - komponen sampel yang memiliki gugus alkil (C-H). Hasil pendeteksian oleh detektor direkam dengan rekorder dan dinamakan kromatogram yang terdiri dari beberapa peak. Jumlah peak yang dihasilkan menyatakan jumlah komponen (senyawa) yang terdapat dalam campuran. Sedangkan luas peak bergantung pada kuantitas (jumlah) suatu komponen dalam campuran. Hasil karakterisasi kromatografi gas di tampilkan pada Tabel 4.2.

Tabel 4. 2 Data karakterisasi kromatografi gas sampel hidrolisat eceng gondok

| Sampel | Waktu retensi | Tinggi | Area |
|-----------------|---------------|----------|---------|
| Standard Etanol | 0,314 | 18727924 | 4195301 |
| Etanol 12 jam | 0,312 | 13885289 | 1916071 |
| Etanol 24 jam | 0,352 | 82138408 | 2156571 |
| Etanol 36 jam | 0,318 | 1488728 | 3391640 |
| Etanol 48 jam | 0,283 | 57430528 | 3726790 |
| Ethanol 60 jam | 0,342 | 94121000 | 3923794 |

Etanol secara kualitatif ditentukan oleh waktu retensi puncak standart (etanol), dimana apabila waktu retensi puncak sampel mendekati waktu retensi puncak standart, maka sampel tersebut dapat diduga mengandung etanol. Berdasarkan hasil pengukuran dapat dilihat pada tabel yang menunjukkan bahwa waktu retensi dari sampel 12, 24, 36, 48, dan 60 jam memiliki

waktu retensi berturut-turut, 0,312; 0,352; 0,318; 0,283; 0,342, sedangkan waktu retensi standar (etanol) adalah 0,314. Waktu retensi standar secara kualitatif dari ke- 5 sampel diduga mengandung etanol. Untuk pengukuran kadar alkohol secara kuantitatif ditentukan dengan cara menghitung luas area puncak sampel dibandingkan dengan luas area puncak standart dikalikan dengan konsentrasi standart (Sudarma, 2013).

Tabel 4. 3 Kadar Etanol Sampel Hasil Fermentasi

| Sampel | %Etanol |
|-------------------|---------|
| Standar Etanol | 98,000 |
| Fermentasi 12 Jam | 44,758 |
| Fermentasi 24 jam | 50,376 |
| Fermentasi 36 jam | 79,226 |
| Fermentasi 48 jam | 87,055 |
| Fermentasi 60 Jam | 91,657 |

Melalui Tabel 4.3 dapat dilihat bahwa semakin lama waktu fermentasi maka kadar etanol yang dihasilkan akan semakin tinggi. Kadar etanol tertinggi yang dihasilkan adalah pada sampel fermentasi 60 jam yaitu sebesar 91,6577 %. Pada penelitian ini kadar etanol yang diperoleh memiliki kadar yang kecil, hal ini dikarenakan proses fermentasi yang kurang optimal karena pada proses fermentasi tidak menggunakan metode batch, media yang digunakan juga berbeda dengan media yang digunakan saat pertumbuhan mikroorganisme ini menyebabkan mikroorganisme akan beradaptasi dengan media baru.

Melalui data kadar etanol pada tabel 4.3 dapat diketahui *yield* etanol yang dihasilkan pada penelitian ini. *Yield* etanol dapat dihitung menggunakan persamaan berikut:

$$\text{Jumlah etanol (gram)} = \frac{\% \text{ etanol}}{100} \times V_{\text{destilat}} \times \rho_{\text{etanol}} \quad (4.3)$$

V_{destilat} : Volume destilat (mL)

ρ_{etanol} : Massa jenis etanol (0,7893 g/mL)

Setelah diketahui jumlah etanol yang terdapat dalam sampel, kemudian dibandingkan dengan jumlah teoritis yang telah dihitung pada Tabel 4.1. *Yield* etanol yang dihasilkan pada penelitian ini ditunjukkan pada tabel 4.4

Perhitungan *Yield* etanol dihitung dengan rumus:

$$\frac{\text{gram etanol}}{\text{gram bubuk eceng gondok}} \times 100\% \quad (4.4)$$

Tabel 4. 4 Hasil Yield Etanol Sampel

| Waktu Fermentasi (jam) | % Etanol | V Destilat (ml) | Hasil Etanol (gram) | Bubur Eceng Gondok (gram) | Yield Etanol (%) |
|------------------------|----------|-----------------|---------------------|---------------------------|------------------|
| 12 | 44,758 | 12,0000 | 4,2377 | 20,08 | 26,7481 |
| 24 | 50,376 | 11,0000 | 4,3721 | 20,02 | 27,6793 |
| 36 | 79,226 | 8,0000 | 5,0008 | 20,10 | 31,5331 |
| 48 | 87,055 | 7,5000 | 5,1515 | 20,01 | 32,6296 |
| 60 | 91,657 | 8,5000 | 6,1470 | 20,03 | 38,8961 |

Yield etanol yang dihasilkan pada penelitian ini tidak bisa mencapai 100% dikarenakan beberapa hal yang sudah dijelaskan sebelumnya, yaitu kandungan media hasil hidrolisis serta metode fermentasi yang kurang optimal karena pada saat fermentasi bisa saja terjadi kebocoran pada penutup yang mengakibatkan proses fermentasi tidak berjalan dengan baik.

“Halaman ini sengaja dikosongkan”

BAB V

PENUTUP

5.1 KESIMPULAN

Kesimpulan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Hidrolisat bubur eceng gondok dapat digunakan untuk memproduksi etanol dengan menggunakan kultur campuran *Z. mobillis* dan *S. cerevisiae*. Hidrolisat bubur eceng gondok difermentasi pada suhu 30 °C dengan pH 5,2.
2. Fermentasi dilakukan pada variasi waktu 12 jam, 24 jam, 36 jam, 48 jam, dan 60 jam dan menghasilkan kadar etanol sebesar 44,75%; 50,37%; 79,22%; 87,05%; 91,65% secara berturut turut, dan diperoleh *yield* sebesar 26,74%, 27,67%, 31,53%, 32,62%, 38,89%.
3. Kadar etanol terbesar didapatkan pada variasi waktu 60 jam sebesar 91,65% dengan *yield* 38,89%.

5.2 SARAN

Untuk penelitian selanjutnya perlu dilakukan perbaikan metode agar penelitian dapat menghasilkan kadar etanol dan *yield* yang lebih tinggi, yaitu dengan memaksimalkan proses delignifikasi dari lignoselulosa sehingga menjadi glukosa yang nantinya akan dirubah menjadi etanol, dan pengadaptasian mikroorganisme terhadap media fermentasi.

“Halaman ini sengaja dikosongkan”

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmed, A.F., Moahmed A, Abdel Naby. 2012. Pretreatment and Enzymic Saccharification of Water Hyacinth Cellulose. Carbohydrate Polymers.
- Alamsyah. 2007. Produksi Bioetanol Dari Biji Sorgum (*Sorghum bicolor*, L Moech) Secara Fermentasi Sebagai Bahan Bakar Alternatif. Makassar: Politeknik Negeri Ujung Pandang.
- Alfena, 2009, "Produksi Etanol Menggunakan Mutan *Zymomonas mobilis* yang Dimutasi dengan Hidroksilamin", Skripsi, ITS, Surabaya.
- Aniek, S .2003. Kerajinan Tangan Enceng Gondok. Jawa Tengah: Balai Pengembangan Pendidikan Luar Sekolah dan Pemuda (BPPLSP)
- Aningsih, G. S. 1991. Kemampuan Enceng Gondok dalam Mengubah Sifat Fisika Kimia Limbah Cair Pabrik Urea dan Asam Formiat. Bandung: Thesis Magister Jurusan Biologi ITB.
- Armid. 2009. Penuntun Praktikum Metode Pemisahan Kimia. Unhalu. Kendari.
- Assegraf, Faisal. 2009. Prospek Produksi Bioetanol Bonggol Pisang (*Musa paradisiacal*) Menggunakan Metode Hidrolisis Asam dan Enzimatis. Semarang: Universitas Jenderal Soedirman.
- Ashari, K., 2013, Pengaruh Penambahan *Pseudomonas aeruginosa* Terhadap Biodegradasi DDT Oleh *Pleurotus ostreatus*, Skripsi Institut Teknologi Sepuluh Nopember, Surabaya.
- Awwalurizki, N. (2009). Hidrolisis Sukrosa dengan ENzim Invertase untuk Produksi Etanol Menggunakan *Zymomonas mobilis*. Skripsi Jurusan Kimia, Institut Teknologi Sepuluh Nopember.
- Buchanan, R.E and Gibbon, N.E., 1975. Bergey's Manual of

- Determinative Bacteriology 8th Edt. Baltimore: The Williams and Wilkins Co.
- Cairns D. 2009. Essentials of Pharmaceutical Chemistry Second Edition (Intisari Kimia Farmasi Edisi Kedua). Penerjemah : Puspita Rini. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Chang, S., Li, J.Z., dan Liu, F. 2011. Evaluation of different pretreatments methods for preparing hydrogen-producing seed inocula from waste activated sludge. Renewable Energy. 36: 1517 – 1522.
- Dachriyanus. 2004. Analisis Struktur Senyawa Organik Secara Spektroskopi. Padang: Lembaga Pengembangan Teknologi Informasi dan Komunikasi, Universitas Andalas.
- Dubois, M., K.A. Gilles, J.K. Hamilton, P.A. Rebers, and F. Smith. 1956. Colorimetric method for determination of sugar and related substances. Anal. Chem. 28:350-356
- Eka, Agustinus., dan Halim Amran .2008. Pembuatan Bioethanol dari Nira Siwalan Secara Fermentasi Feses Cair Menggunakan Fermipan. Semarang: Universitas Diponegoro.
- El- Mansi, E. M. T., 2007. “Fermentation Microbiology and Biotechnology”, second edition, Taylor and Francis group, LLC, New York.
- Endah, R. D., Sperisa, D., Adrian, N., Paryanto. 2007. Kinetika Reaksi Tepung Sorgum dengan Katalis Asam Klorida (HCl). Surakarta: Universitas Sebelas Maret.
- Fardiaz, S., 1992. Mikrobiologi Pangan I. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
- Fennema, O.W., 1985. Principle of Food Science, Food Chemistry, 2nd (ed). Marcel Dekker Inc, New York.
- Fengel, D., Wegener, G., 1995, Kayu: Kimia Ultrastruktur reaksi, (diterjemahkan oleh Hardjono Sastrohamidjoyo), cetakan

- pertama, Penerbit UGM Press, Yogyakarta, Halaman 47-55, 124-129, 439-441.
- Fessenden, R.J. and J.S. Fessenden. 1986. Kimia Organik Dasar Edisi Ketiga. Jilid 1 dan Jilid 2. Terjemahan oleh A.H. Pudjaatmaka. Erlangga. Jakarta.
- Fuskhah, E. 2000. Eceng Gondok (*Eichhornia crassipes*) sebagai Alternatif Sumber Bahan Pakan, Industri dan Kerajinan. Jurnal Ilmiah Sainteks VII (4):226-234.
- Gandjar, I. G. & Rohman, A., 2007, Kimia Farmasi Analisis, 323-346, Pustaka Pelajar, Yogyakarta.
- Gani, A., A.K.M, Rahman. 2002. Journal Of Biological Science, 2(8): 558-559.
- Ganzoury, M.; Allam, N.; Nicolet T. (2015). Introduction to Fourier Transform Infrared Spectrometry. Renewable and Sustainable Energy Reviews, 50, 6-9.
- Gunasekaran,P.dan Raj,K.C.1999, Fermentation Technology- Zymomonas mobilis,Departement of Microbial Technology, School Of Biological Science, Mandurai Kamaraj University: India.
- Gunasekaran, P. and Raj, C. K., 2002. Ethanol Fermentation Technology - Zymomonas mobilis. Current Science. Vol. 77 #1: 56 – 58
- Jutono, dkk.1980. Pedoman praktikum Mikrobiologi umum (Untuk Perguruan Tinggi). Yogyakarta: UGM Press.
- Hambali E., 2007. Teknologi Bioenergi. Bogor: PT. Agromedia Pustaka.
- Harahap, Mahyuni, Thamrin, dan Saharman Gea. 2012. Pembuatan Selulosa Asetat Dari α Selulosa Yang Diisolasi Dari Tandan Kosong Kelapa Sawit. Jurnal FMIPA USU.
- Harmita. 2006. Buku Ajar Analisis Fisikokimia. Departemen Farmasi FMIPA Universitas Indonesia. Depok, pp. 144-161.
- Harun, M. Y., Radiah, A. B. D., Abidin, Z. Z., Yunus, R. (2011).

- Effect of Physical Pretreatment on Dilute Acid Hydrolysis of Water Hyacinth (*Eichhornia crassipes*). Bioresource Technology. 102, 5193–5199.
- Hendayana, S., 2006. Kimia Pemisahan Metode Kromatografi dan Elektroforesis Modern. Bandung: Remaja Rosdakarya
- Higuchi, Takayoshi, 2004. Microbial Degradation of Lignin : Role of Lignin Peroxidase, Manganese Peroxidase, and Laccase. Proc. Jpn. Acad, Volume 80.5, pp. 204-214.
- Holtzapple, M. T. (2003). Hemicelluloses. In Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition (pp. 3060-3071). Academic Press.
- Irianto, K. 2007. Mikrobiologi Umum. CV Yrama Widya. Bandung.
- Khopkar, S. M. (2004). Basic Concepts of Analytical Chemistry. New Delhi : New Age International (P) Ltd., Publisher
- Kotter P, Ciriacy M. 1993. Xylose fermentation by *Saccharomyces cerevisiae*. Applied Microbiology and Biotechnology. 38: 776-783.
- Lay, Bibiana W. dan Hastowo, Sugyo, (1992), Mikrobiologi, Rajawali Press, Jakarta.
- Lehninger, A.L. 1993. Dasar-dasar biokimia. Jilid 1, 2, 3. (Alih bahasa oleh; M. Thenawidjaja). Erlangga, Jakarta.
- Levett, P.N., 1990. Anaerobic Bacteria. Bristol: Wilson and Son
- Machbubatul. 2008. Pembuatan Kaldu Dari Kepala Ikan Tuna Dengan Cara Hidrolisis Asam. Jurusan Teknologi Industri Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya. Malang.
- Maier, R.M., Pepper, I.L., Gerba, C.P., (2009), Environmental Microbiology second Editio, Academic Press Elsevier, UK.
- Maisaroh. 2009. Hidrolisis Selulosa Bagas dengan Enzim Selulase dari Bekicot (*Achatina fulica*) untuk Produksi

- Etanol menggunakan *Zymomonas mobilis* A3. Tesis Jurusan Kimia, Institut Teknologi Sepuluh Nopember.
- McNair, H. M. (2009). Basic Chromatography, Second Edition, New Jersey: A John Wiley & Sons, Inc Publication.
- Muchtadi, T. R. dan F. Ayustaningwarno. 2010. Teknologi Proses Pengolahan Pangan. Alfabeta, Bandung.
- Mukhtasor, 2009, "Agenda Energi Terbarukan dalam Konteks Kebijakan Energi Berkelanjutan", ITS Press, Surabaya
- Musanif, J. 2012. Pedoman Teknis Studi Kelayakan Pabrik Gula Mini. Kementerian Pertanian. Jakarta.
- Mulja, M, Suharman. 1995. Analisis Instrumental. Airlangga University Press. Surabaya.
- Ndaba, B., Chiyanzu, I., Marx, S., Obiero, G. (2014). Effect of *Saccharomyces cerevisiae* and *Zymomonas mobilis* on the Co-fermentation of Sweet Sorghum Bagasse Hydrolysate pretreated Under Varying Conditions. Biomass and Bioenergy. 71, 350-356.
- Pancasning, P.H.(2008), Produksi Etanol Menggunakan *Zymomonas mobilis* yang Amobilisasi dengan Agarosa, Skripsi, Jurusan Kimia FMIPA, ITS, Surabaya
- Pandey, B. P. 1980. An Introduction to Plant Anatomy. S.Chand and Company Ltd. New Delhi. p: 159-201
- Pasaribu RA.1987. Sifat Kimia Kayu. Bogor: Balai Penelitian Hasil Hutan.
- Prabowo, A. 2011. Pengawetan Dedak Padi dengan Cara Fermentasi. Available at <http://sumsel.litbang.deptan.go.id/index.php/component/content/article/53-it-1/206-dedak-padi>. Diakses pada tanggal 23 Juli 2018.
- Prihandana, Rama. 2007. Bioenergi Ubi Kayu Bahan Bakar Masa Depan. Jakarta: Agromedia Pustaka.
- Riyanti. E. 1., 2009. "Biomassa Sebagai Bahan Baku Bioetanol". Jurnal Litbang Pertanian, 28: 101-110.

- Saraswati. "Pembuatan Glukosa Secara Enzimatik dari Bahan Baku PatiSagu".Jurnal Teknik Kimia 2004, h: 56-63.
- Sastrohamidjojo, H. 2002. Kromatografi. Liberty. Yogyakarta. Hlm 35-36.
- Sastrohamidjojo, H. 2007. Spektroskopi. Yogyakarta: Liberty.
- Schlegel, H. G dan Schmidt, K. 1994. Mikrobiologi Umum. Gadjah Mada University Press: Yogyakarta.
- Silverstein, R.M., G.B. Bassler., and T.C.D. Morcill. 1986. Penyelidikan Spektrometrik Senyawa Organik. AlihBahasa: A.J. hartomo, dan AnnyVictor Purba. Erlangga. Jakarta. Hlm 191-195.
- Simanjuntak, H.M. 1994. Pengaruh Komposisi Larutan Pemasak dan Suhu Pemasakan Pada Pengolahan Pulp Acetosolv Kayu Eucalyptus deglupta [Skripsi]. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Skoog, Douglas A., Holler, J.F., Crouch, S.R. (1998). Principles of Instrumental analysis sixth Edition. Thomson Brooks/Cole. Canada.
- Stanbury, P. F & Whitaker, A., 1984, Principles of Fermentation Technology, Pergamon Press, Oxford, New York, Toronto, Sydney, Paris, Frankfurt.
- Steenis, C. G. G. J Van., 1978. Flora untuk Sekolah Di Indonesia. Cetakan Kedua. PT. Pradnya Paramita, Jakarta.
- Sudarma. 2013. Analisis Faktor Yang Berhubungan Dengan Kejadian Konsumsi Alkohol. Jurnal. Info Kes. Vol. 1
- Sukumaran, R.K, R.R Singhanian and A. Pandey. 2005. Microbial Cellulases: Production, Applications and Challenges. J. of Scientific & Industrial Res. Vol 64, 832-844.
- Supratman, Unang. 2010. Elusidasi Struktur Senyawa Organik. Bandung: Widya Padjajaran.
- Suprihatin. 2010. Teknologi Fermentasi. Surabaya: UNESA Pres.
- Swings, J dan De Ley J., 1977, "The biology of Zymomonas",

- Bacteriol Rev. a41: 1 – 46.
- Tanaka, K., Hilary, Z. D., Ishizaki, A. (1999). Investigation of Utility of Pineapple Juice and Pineapple Waste Material as Low-Cost Substrate for Ethanol Fermentation by *Zymomonas mobilis*. Journal of Bioscience and Bioengineering. 87(5), 642-646.
- Tano, M. S. & Buzato, J. B., 2003, “Effect of The Presence of Initial Ethanol on Ethanol Production in Sugar Cane Juice Fermented by *Zymomonas mobilis*”. Braz. J. Microbiol. 34: 242-244.
- Tao, F., Miao, J. Y., Shi, G. Y., dan Zhang, K. C., 2003, Ethanol Fermentation by an Acid-tolerant *Zymomonas mobilis* under Non-sterilized Condition, Process Biochemistry, Elsevier, 40: 183-187.
- Utami, Sri, 2007, “Pengelolaan Energi Nasional 2005- 2025”, Staf Ahli Menteri Bidang Ekonomi dan Keuangan, Departemen Energi dan Sumberdaya Mineral, Jakarta
- Villamagna, A.M. 2009. Ecological effect of water hyacinth (*Eichhornia crassipes*) on Lake Chapala, Mexico. Faculty of the Virginia Polytechnic Institute and State University, Virginia (Dissertation).
- Walisiewicz, M., 2003. Energi Alternatif: Panduan ke Masa Depan Teknologi Energi. Erlangga, Jakarta.
- Waluyo, L., 2007. Mikrobiologi Umum. UPT Penerbita UMM. Malang.
- Widdel, Friedrich., (2010), Theory and Measurement of Bacterial Growth, Grundpraktikum Mikrobiologie Universitat Bremen, German.
- Winjaya, I Nyoman P. 2011. Proses Treatment Dengan Menggunakan NaOCl dan H₂SO₄ Untuk Mempercepat Pembuatan Bioetanol Dari Limbah Rumput Laut *Eucheuma Cottonii*. Universitas Udayana. Bali
- Wyman, C. E. 1994. Ethanol from lignocellulosic biomass:

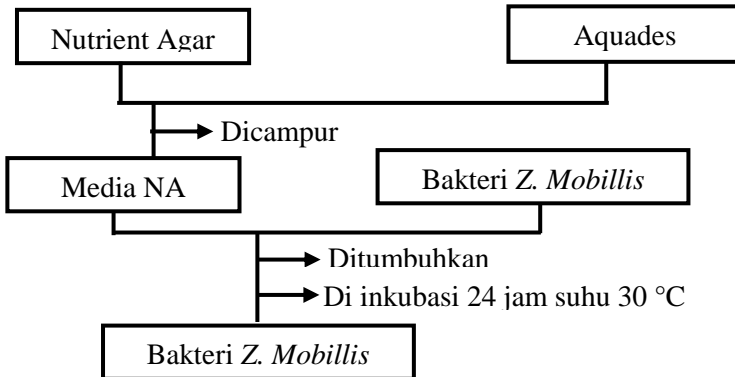
Technology, economics, and opportunities. *Bioresource Technology*, 50, 3-15.

Yuliana, Eka. 2011. *Produksi Bioetanol dari Empulur Sagu Menggunakan Enzim dan Khamir dari Isolat Lokal*. Bogor: Institut Pertanian Bogor.

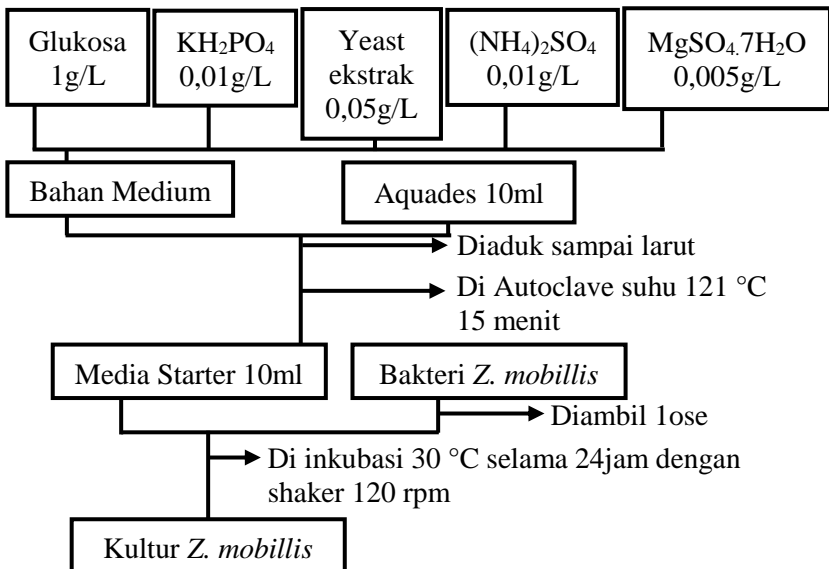
LAMPIRAN

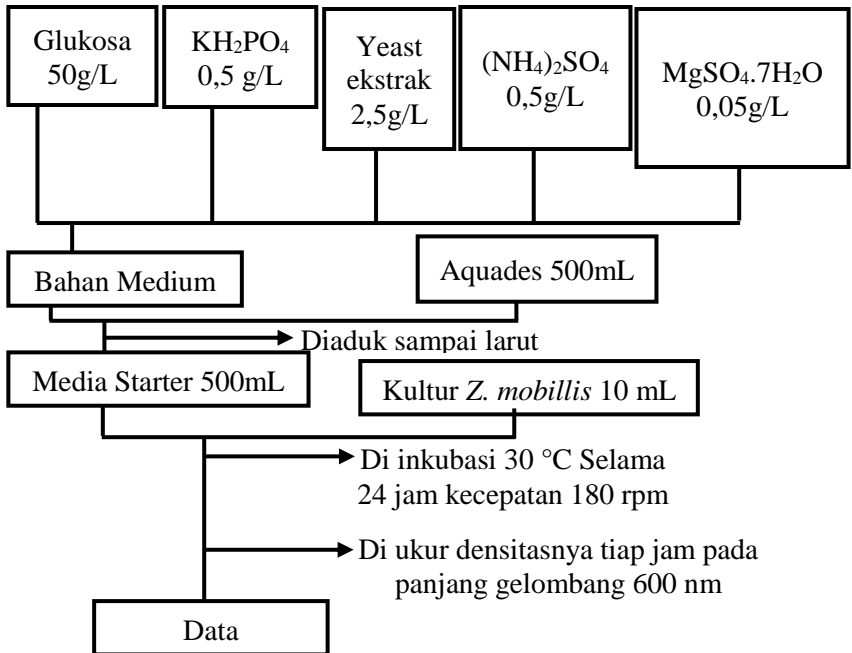
Lampiran 1 Prosedur Kerja

1.1. Pemiakan Bakteri *Z. Mobillis*

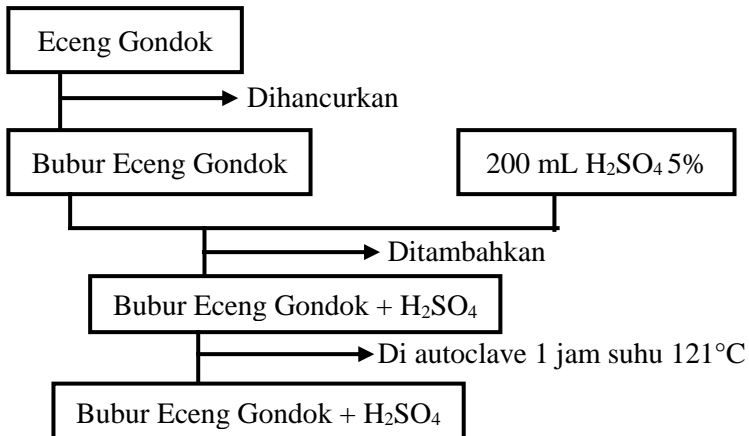


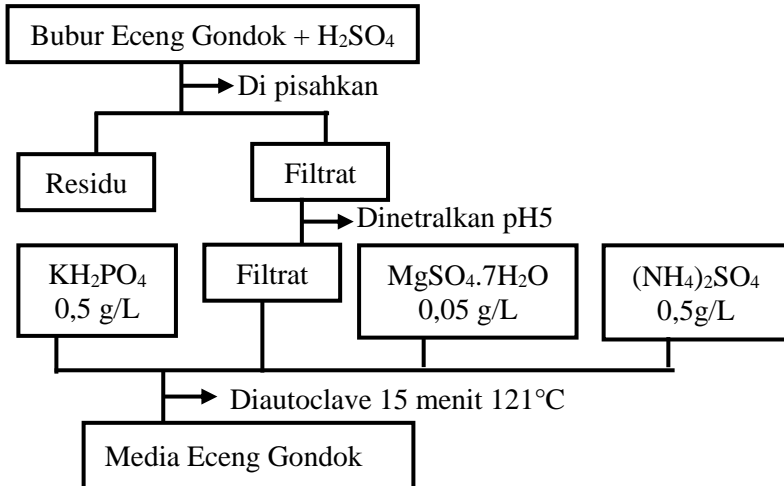
1.2. Pembuatan Kurva Pertumbuhan Bakteri *Z. Mobillis*



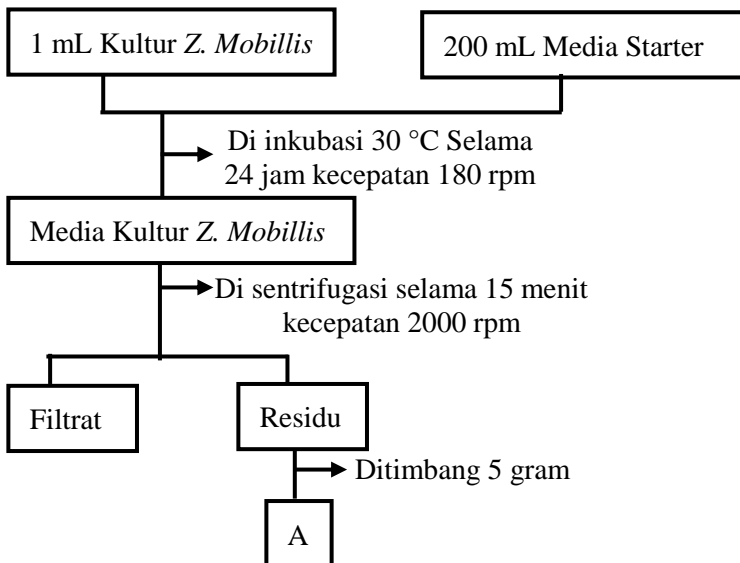


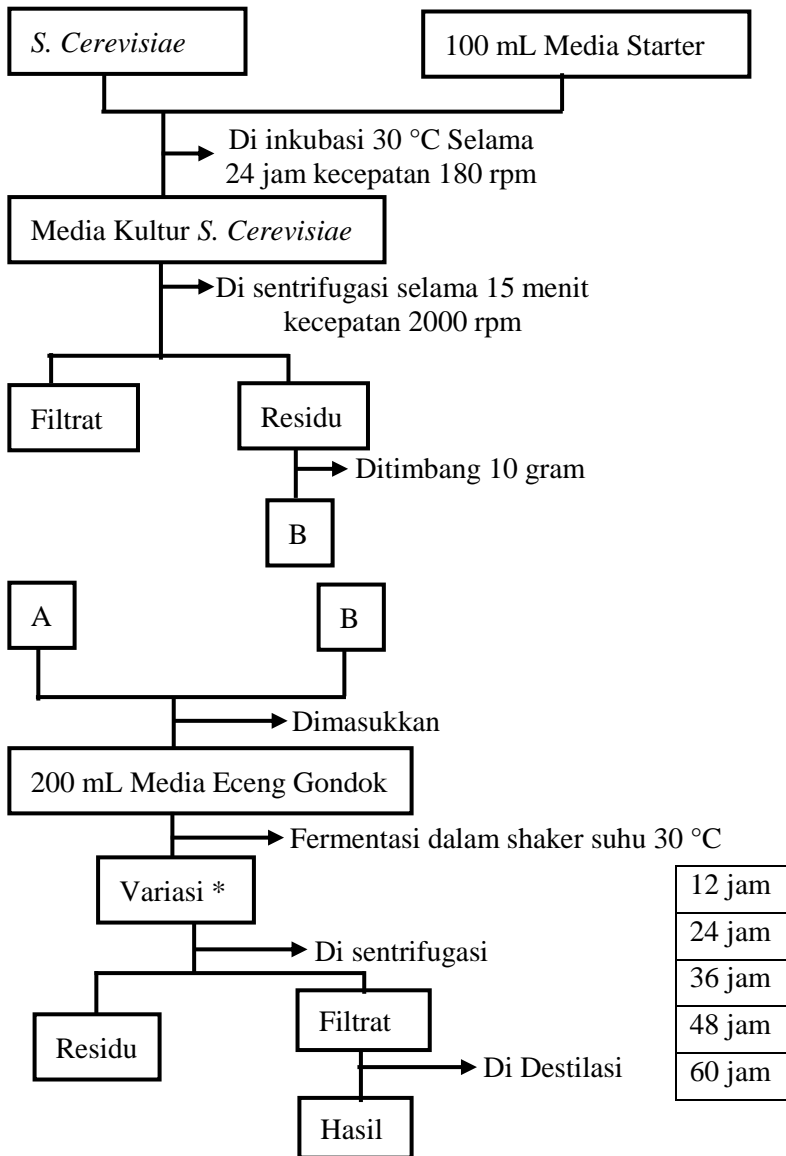
1.3. Pembuatan Media Eceng Gondok





1.4. Penentuan Pola Fermentasi





Lampiran 2 Kurva Pertumbuhan Bakteri *Z. Mobillis*

| Jam | Absorbansi |
|-----|------------|
| 0 | 0,013 |
| 1 | 0,018 |
| 2 | 0,023 |
| 3 | 0,026 |
| 4 | 0,029 |
| 5 | 0,037 |
| 6 | 0,056 |
| 7 | 0,087 |
| 8 | 0,134 |
| 9 | 0,207 |
| 10 | 0,311 |
| 11 | 0,459 |
| 12 | 0,695 |
| 13 | 0,921 |
| 14 | 1,113 |
| 15 | 1,310 |
| 16 | 1,470 |

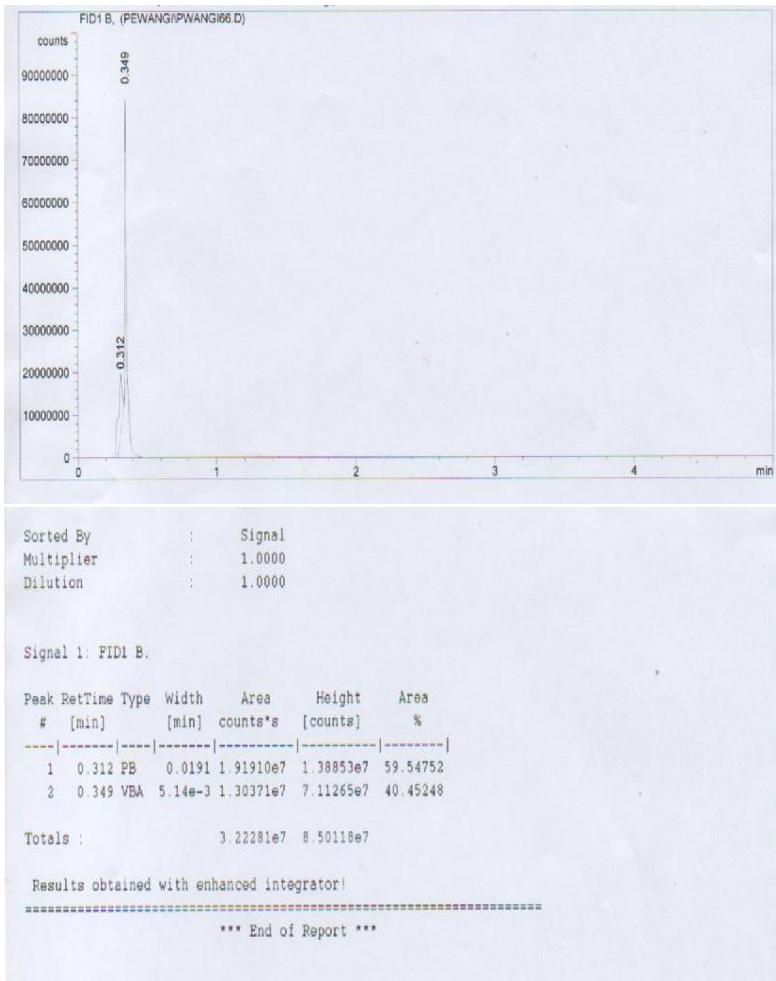
| Jam | Absorbansi |
|-----|------------|
| 17 | 1,568 |
| 18 | 1,647 |
| 19 | 1,682 |
| 20 | 1,719 |
| 21 | 1,765 |
| 22 | 1,777 |
| 23 | 1,804 |
| 24 | 1,810 |
| 25 | 1,827 |
| 26 | 1,835 |
| 27 | 1,846 |
| 28 | 1,851 |
| 29 | 1,858 |
| 30 | 1,865 |
| 31 | 1,861 |
| 32 | 1,854 |

Lampiran 3 Kurva Standar Glukosa

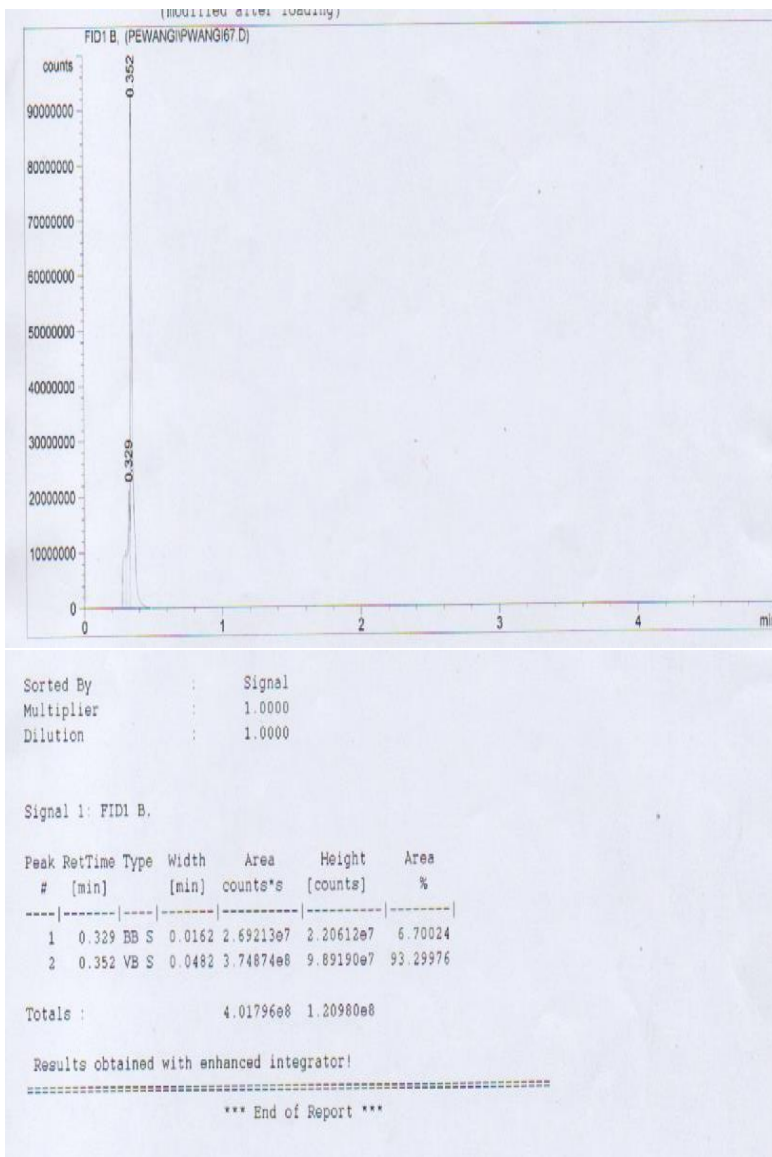
| Glukosa (ppm) | Absorbansi (A) |
|---------------|----------------|
| 0 | 0,000 |
| 10 | 0,108 |
| 20 | 0,234 |
| 30 | 0,309 |
| 40 | 0,434 |
| 50 | 0,536 |
| 60 | 0,676 |

Lampiran 4 Data Kromatogram Etanol Hasil GC

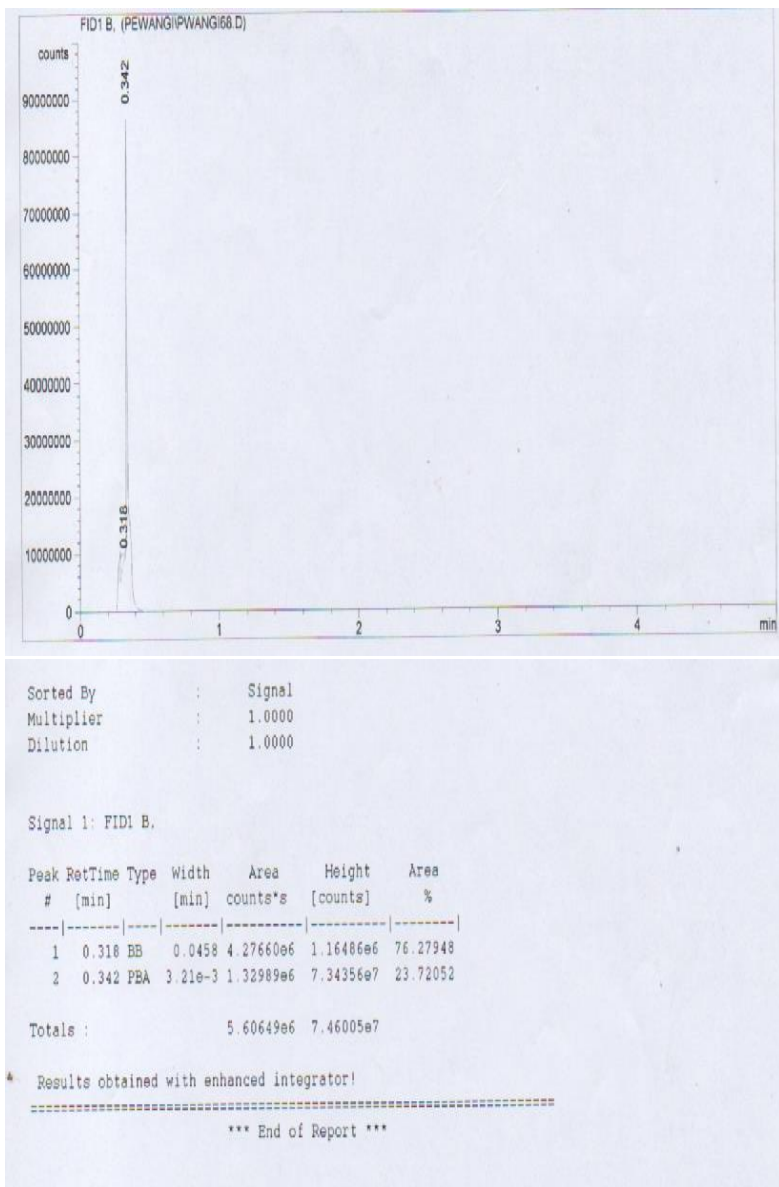
4.1. Kromatogram Etanol Fermentasi 12 jam



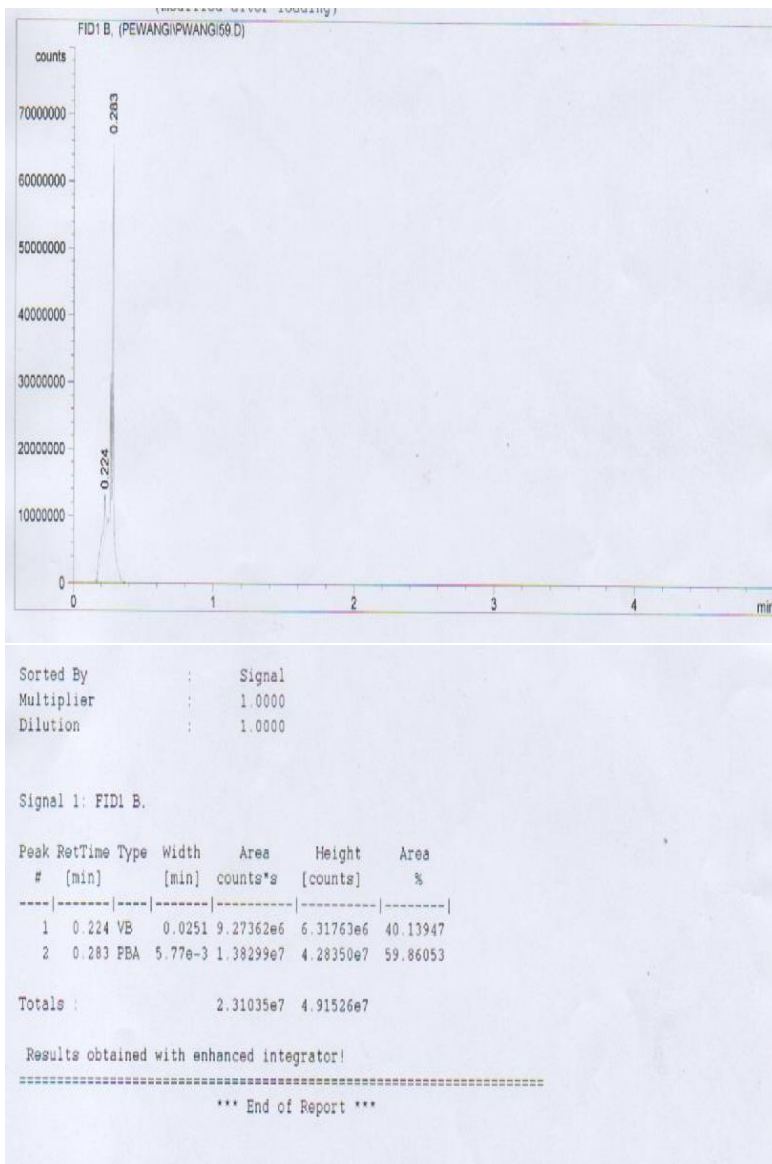
4.2 Kromatogram Etanol Fermentasi 24 jam



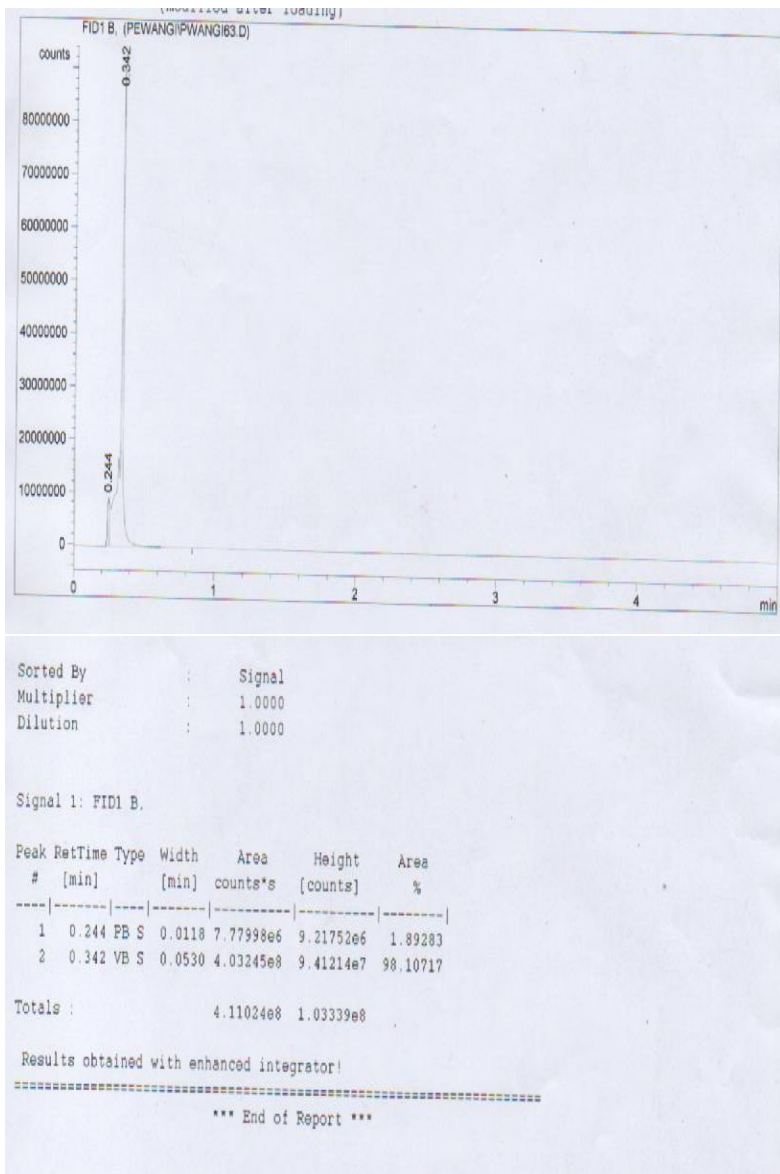
4.3 Kromatogram Etanol Fermentasi 36 jam



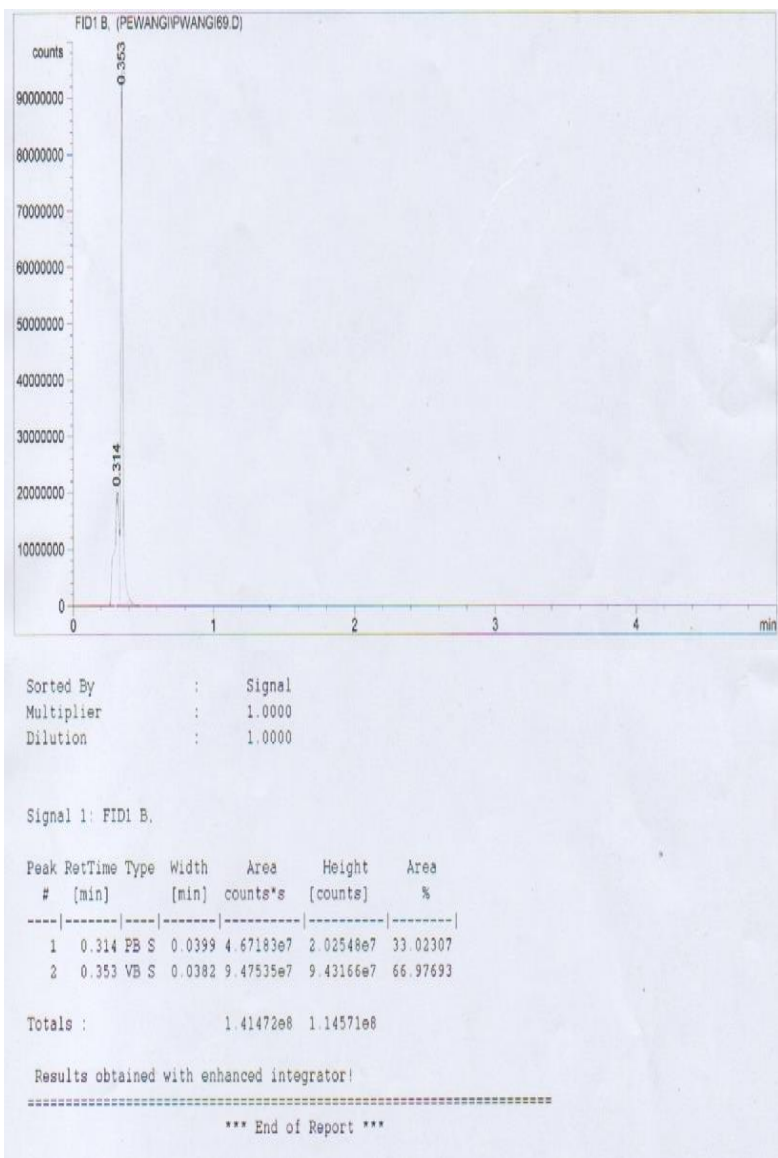
4.4 Kromatogram Etanol Fermentasi 48 jam



4.5 Kromatogram Etanol Fermentasi 60 jam



4.6 Kromatogram Etanol Standar



Lampiran 5 Perhitungan

5.1 Perhitungan Etanol Teoritis

$$\text{Etanol Teoritis} = (\text{Glukosa Awal} - \text{Glukosa Akhir}) \times 0,5$$

| Waktu Fermentasi (Jam) | Glukosa Awal (gram) | Glukosa Akhir (gram) | Konsumsi Glukosa (gram) | Etanol Teoritis (gram) |
|------------------------|---------------------|----------------------|-------------------------|------------------------|
| 12 | 3,0015 | 1.9904 | 1,0111 | 0,5156 |
| 24 | 3,0015 | 1,9643 | 1,0372 | 0,5289 |
| 36 | 3,0015 | 1,8802 | 1,1213 | 0,5718 |
| 48 | 3,0015 | 1,8576 | 1,1439 | 0,5833 |
| 60 | 3,0015 | 1,6567 | 1,3448 | 0,6858 |

5.2 Perhitungan Kadar Etanol Sampel

$$\% \text{Etanol Sampel} = \frac{A_{\text{Sampel}}}{A_{\text{Standar}}} \times \text{Konsentrasi Standar}$$

A_{Sampel} : Luas puncak Sampel

A_{Standar} : Luas puncak Standar

| Sampel | Waktu retensi | Tinggi | Area |
|-----------------|---------------|----------|---------|
| Standard Etanol | 0,314 | 18727924 | 4195301 |
| Etanol 12 jam | 0,312 | 13885289 | 1916071 |
| Etanol 24 jam | 0,352 | 82138408 | 2156571 |
| Etanol 36 jam | 0,318 | 1488728 | 3391640 |
| Etanol 48 jam | 0,283 | 57430528 | 3726790 |
| Ethanol 60 jam | 0,342 | 94121000 | 3923794 |

| Sampel | Waktu Retensi | Area Sampel | %Etanol |
|-------------------|---------------|-------------|---------|
| Standar Etanol | 0,314 | 4195301 | 98,000 |
| Fermentasi 12 Jam | 0,312 | 1916071 | 44,758 |
| Fermentasi 24 jam | 0,352 | 2156571 | 50,376 |
| Fermentasi 36 jam | 0,318 | 3391640 | 79,226 |
| Fermentasi 48 jam | 0,283 | 3726790 | 87,055 |
| Fermentasi 60 Jam | 0,342 | 3923794 | 91,657 |

5.3 Perhitungan Jumlah Etanol (gram)

$$\text{Jumlah etanol (gram)} = \frac{\% \text{ etanol}}{100} \times V \text{ destilat} \times \rho \text{ etanol}$$

V destilat : Volume destilat (mL)

ρ etanol : Massa jenis etanol (0,7893 g/mL)

5.4 Perhitungan *Yield* Etanol

$$\frac{\text{gram etanol}}{\text{gram bubuk}} \times 100\%$$

| Waktu Fermentasi (jam) | %Etanol | V Destilat (ml) | Hasil Etanol (gram) | Bubur Eceng Gondok (gram) | Yield Etanol (%) |
|------------------------|---------|-----------------|---------------------|---------------------------|------------------|
| 12 | 44,758 | 12,0000 | 4,2377 | 20,08 | 26,7481 |
| 24 | 50,376 | 11,0000 | 4,3721 | 20,02 | 27,6793 |
| 36 | 79,226 | 8,0000 | 5,0008 | 20,10 | 31,5331 |
| 48 | 87,055 | 7,5000 | 5,1515 | 20,01 | 32,6296 |
| 60 | 91,657 | 8,5000 | 6,1470 | 20,03 | 38,8961 |

BIODATA PENULIS



Penulis dengan nama lengkap RADLIN MAULANAL HAQ lahir di Jakarta, 15 April 1996, sebagai anak terakhir dari dua bersaudara, orang tua bernama Abdul Wahab dan Nunung Indah Riyanti. Penulis beralamat di Jl. Sidotopo Wetan Mulia IV/62 Kec. Kenjeran Kota Surabaya. Penulis adalah alumni dari TK Hasanuddin, SD Negeri Sidotopo Wetan III, SMP Negeri 9 Surabaya, SMA Negeri 1 Surabaya. Setelah lulus menempuh pendidikan menengah atas, penulis melanjutkan Pendidikan Tinggi di Departemen Kimia Fakultas Ilmu Alam (FIA) Institut Teknologi Sepuluh Nopember (ITS) Surabaya melalui jalur SNMPTN, pada bulan Agustus 2014 dan terdaftar sebagai mahasiswa Kimia ITS dengan NRP 01211440000025. Penulis juga pernah melakukan kerja praktik di Laboratorium Forensik cabang Surabaya Polda Jatim. Penulis menyelesaikan pendidikannya di Departemen Kimia FIA ITS dengan mengambil tugas akhir yang berjudul **“FERMENTASI HIDROLISAT ECENG GONDOK BASAH MENJAI ETANOL OLEH *Zymomonas mobilis* DAN *Saccharomyces cerevisiae*”** yang dibimbing oleh Ibu Yatim Lailun Ni'mah, M.Si., Ph.D. dan Bapak Herdayanto Sulisty Putro, M.Si. Penulis dapat diajak berdiskusi mengenai tugas akhir maupun topik lainnya dan dapat dihubungi melalui email radlinmh@gmail.com.